

## 탑형 생물반응기 기포탑과 삼상유동층에서의 회분식 Xanthan 생산

서일순<sup>†</sup> · Wolf-Dieter Deckwer\*

건국대학교 화학공학과

\*GBF-Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH., Abteilung Bioverfahrenstechnik  
(1995년 5월 13일 접수, 1995년 7월 25일 채택)

### Batchwise Xanthan Production in Tower Bioreactors- Bubble Column and Three Phase Fluidized Bed

Il-Soon Suh<sup>†</sup> and Wolf-Dieter Deckwer\*

Department of Chemical Engineering, Kunkuk University

\*Biochemical Engineering Division, GBF-National Research Center for Biotechnology, D-38124 Braunschweig, Germany

(Received 13 May 1995; accepted 25 July 1995)

#### 요 약

기포탑(0.085 m<sup>3</sup>) 및 삼상유동층(0.114 m<sup>3</sup>) 탑형반응기를 호기성 박테리아 *Xanthomonas campestris*에 의한 세포외 다당류 xanthan의 회분식 생산에 사용하였다. 직경 8 mm 유리 유동입자는 고집도 배양액에서도 공기 기포를 분쇄하여, 삼상유동층은 기포탑에 비해 약 7배 높은 기-액 물질전달계수를 나타내었다. 반면에 회분식 발효 중 상당한 배양액 유효점도의 증가로 인한 충팽창 때문에, 삼상유동층 반응기의 운전은 제한된 xanthan 농도 범위 내에서 가능하였다. 높은 산소흡수효율(kg-O<sub>2</sub>/kWh) 및 에너지투입속도 그리고 운전의 복잡성을 고려할 때, 삼상유동층 생물반응기는 발효 중 일정한 배양액 유변학적 특성을 보이는 연속생산공정에 적합할 것이다.

**Abstract**—Tower reactors of a bubble column(0.085 m<sup>3</sup>) and a three phase fluidized bed(TPFB, 0.114 m<sup>3</sup>) were used for the batch production of exocellular polysaccharide xanthan with the aerobic bacteria *Xanthomonas campestris*. Even at high viscosities the fluidized particles of 8.0 mm glass beads disintegrated the air bubbles, which led to about seven times higher gas-liquid mass transfer coefficient in the TPFB compared to that in the bubble column. On the other hand, the TPFB reactor could be operated in a limited range of xanthan concentrations due to the large bed expansion caused by a considerable increase in the effective viscosity of culture broths during a batch fermentation. Taking into account the high oxygen sorption efficiency(kg-O<sub>2</sub>/kWh), the high energy input rate and the operation complexity, the TPFB bioreactor is expected to be appropriate for the continuous production of xanthan which shows constant rheological properties of culture broths at a steady state.

**Key words:** Xanthan Fermentation, Bubble Column, Three Phase Fluidized Bed, Gas Liquid Oxygen Transfer Rate, Sorption Efficiency

#### 1. 서 론

Xanthan은 미생물이 세포 밖으로 배출하는 대표적인 세포외 다당류 중 하나이다[1]. 물에 잘 녹으며 적은 양으로 높은 점도를 얻을 수 있고 수용액은 강한 가소성을 나타낸다. 이러한 유변학적 성질은 온도, pH, 염도 등의 변화에 거의 영향을 받지 않아 식품, 의약품, 화장품 및 화학산업에서 유화제, 안정제, 윤활제, 응고제 등으로 널리 사용되고 있다. 특히 앞으로 삼차 원유회수공정에 대량 사용될 전망이다[2].

산업적으로 xanthan은 절대 호기성 박테리아인 *Xanthomonas campestris*를 이용하여 100 m<sup>3</sup> 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. 이러한 문제를 피하기 위하여 교반기와 반응기의 직경비가 비교적 큰 특수한 교반기를 채용하여 대량의 에너지를 투입한다. 따라서 원가 중 동력비가 차지하는 비중이 상당히 크다. 현재 xanthan은 질에 따라 kg당 10-20달러의 고가로 판매되고 있다.

Xanthan 발효에 있어 반응기 형태 및 운전변수와 배양방법, 배지 및 배양조건이 배양액의 유변학적 특성에 미치는 영향을 주요 발효변수들 간의 상호작용으로 Fig. 1에 나타내었다. Xanthan 생성속도는 균의 증식속도에 다음과 같이 부분적으로 연관된다[3].

$$\left(\frac{dP}{dt}\right) = A\left(\frac{dX}{dt}\right) + BX \quad (1)$$

이 식에 의하면 회분식 발효에 있어 발효초기의 세포 증식기 동안은

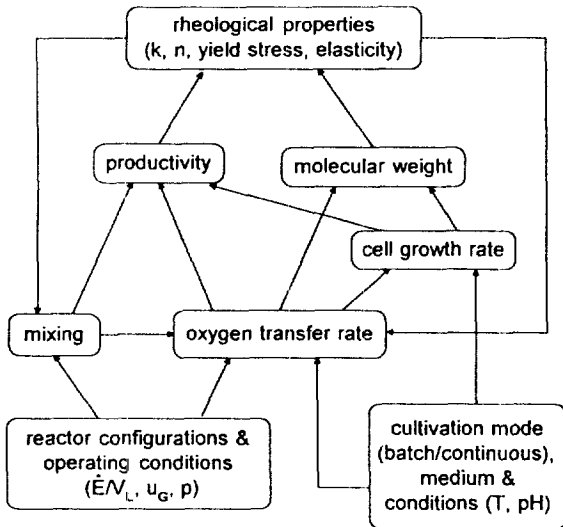


Fig. 1. Parameter interactions in the microbial production of exopolysaccharide xanthan.

오른편 첫째항으로 나타내지는 세포증식의 기여로 인해 발효후기의 정상기에 비해 높은 xanthan 비생산성을 보인다(연속식 배양에 있어서는 비생산성은 회석률이 증가함에 따라 증가함을 의미한다). 배양의 산소요구량  $Q_{O_2}$ 도 부분적으로 균의 증식에 다음과 같이 연관된다[4].

$$Q_{O_2} = C \left( \frac{dX}{dt} \right) + DX \quad (2)$$

세포농도가 증가함에 따라 산소요구량이 증대되어 용존산소농도는 감소하게 되며 어느 순간에 고갈된다. 동시에 xanthan의 농도도 증가하여 배양액 점도의 증가를 유발하며 용존산소가 고갈된 후에는 ( $C_L=0$ ) 식 (3)으로 나타내지는 단위액상체적당 기-액 산소전달 속도가 계속 감소하여 세포는 산소공급제한 조건하에 있게 된다.

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

따라서 비교적 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상기에서의 비생산성을 나타내는 식 (1)의 B는 기-액 산소전달속도가 감소함에 따라 급격히 떨어진 후 다음과 같이 선형적으로 감소하는 경향을 보인다[5].

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

배양액의 유변학적 특성에 커다란 영향을 미치는 xanthan 다당류의 분자량도 세포의 증식속도와 기-액 산소전달속도에 영향을 받는다. 즉 세포 비증식속도가 증가함에 따라 분자량이 큰 xanthan이 생성되며, 산소전달속도가 감소함에 따라 분자량이 작은 xanthan이 생성된다[6-8].

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

이상과 같이 세포 비증식속도와 기-액 산소전달에 영향을 받는 xanthan의 비생산성과 분자량은 배양액의 유효점도에 커다란 영향을 미치며 역으로 다시 기-액 산소전달속도에 영향을 준다[8, 9]. 또한 기-액 산소전달속도는 xanthan의 질을 나타내는 다른 척도인 pyruvate 함유량에도 영향을 미친다[10].

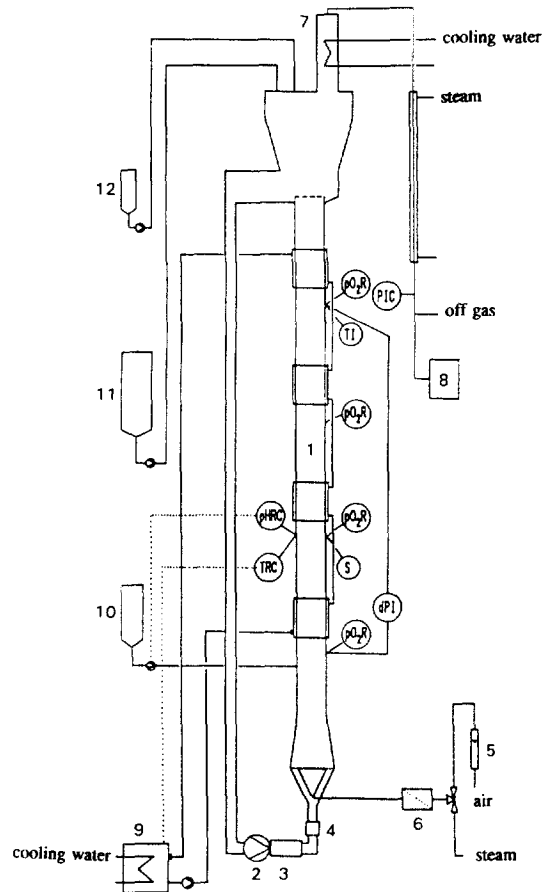


Fig. 2. Schematic diagram of three phase fluidized bed bioreactor system.

- |   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| 1. Three phase fluidized bed            | 7. Offgas cooler                    |
| 2. Liquid-circulation pump              | 8. Offgas $O_2$ and $CO_2$ analyzer |
| 3. Pulsation damper                     | 9. Thermostat                       |
| 4. Magnetic inductive liquid flow meter | 10. NaOH tank                       |
| 5. Gas rotameter                        | 11. Water tank                      |
| 6. Air filter                           | 12. Antifoam agent tank             |

Xanthan 농도가 증가함에 따라 배양액은 강한 가소성, 점탄성 및 항복응력 등의 복잡한 유변학적 특성을 나타낸다. 따라서 일반적으로 사용되는 교반식 발효조에서는 낮은 전단속도를 나타내는 반응기 벽 부근에 정체구역이 형성되어 반응기의 유효부피 및 균의 비생산성은 감소한다[2, 9]. 이에 반해 기포탑은 높은 xanthan 농도의 고점도에서 형성되는 기포 슬러그의 후류의 작용으로 인해서 좋은 혼합특성을 나타낸다[11]. 이러한 기포 슬러그는 낮은 단위 부피당 기-액 접촉면적을 유발할 것으로 예견되에도 불구하고 기포탑 반응기는 교반식 반응기에 비해 높은 산소흡수효율을 나타낸다[12].

본 연구에서는 탁월한 혼합도와 우수한 기-액 산소전달 특성을 나타내는 기포탑의 성능을, 특히 기-액 산소전달성능면에서, 한층 더 향상시키기 위해서 유동층 생물반응기를 회분식 xanthan 발효에 적용하였다. Kim 등[13]은 낮은 점도의 액체에서 3 mm 이상 직경의 유리입자를 사용할 경우에 유동입자는 기포를 분쇄하는 효과를 나타낸다고 보고한 바 있다. 이러한 기포분쇄효과는 기-액 접촉면적을 증가시켜 기-액 물질전달속도를 증가시킬 것이다. 유동층 반

응기에서 기상산소수지 방법으로 발효 중 단위체적당 기-액 물질 전달계수를 측정하여 같은 공기유속을 사용한 기포탑 반응기에서의 xanthan 발효결과와 체계적으로 비교하였다. 또한 이들 반응기에서의 단위에너지당 산소흡수효율을 같은 배양조건을 사용한 교반식(Rushton turbine, propeller with draft tube, INTERMIG), 공기 리프트 및 high turbulence plunging jet 등의 생물반응기에서의 산소흡수효율과 비교하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2-1. 생물반응기

본 연구에서 사용한 기포탑 반응기는 내경이 0.15 m, 높이가 2.86 m이고 전부피는 0.085 m<sup>3</sup>이다[9]. 삼상유동층 반응기는 기포탑을 개조하여 사용하였으며 Fig. 2에 나타내었다. 내경 0.05 m의 스테인레스스틸 외부순환루프를 이용하여 기포탑 상단의 기-액 분리기와 탑하단을 연결하였으며 반응기의 전부피는 0.114 m<sup>3</sup>이다. 주탑은 반응기 내의 배양액의 유동상태를 관측하기 위한 유리관과 열교환기인 스테인레스스틸관으로 구성되었다. 유동입자로는 직경이 8 mm이고 밀도가 2514 kg/m<sup>3</sup>인 유리구슬 51 kg을 사용하였다. 주탑 내에서 고체입자를 유동화시키기 위해서 배양액을 멸균 가능한 연동펌프(SP 50, Bredel, Delden)와 덤퍼(PD 65, Bredel, Delden)를 이용하여 강제 순환시켰다. 회분식 발효 중 xanthan이 생성됨에 따라 배양액의 점도가 상당히 증가한다. 따라서 유동층 높이를 주탑 내에서 유지시키기 위하여 배양액 순환유량을 연동펌프의 회전속도를 수동으로 조절하여 발효초기의 3.75 m<sup>3</sup>/h에서 발효말기의 1.65 m<sup>3</sup>/h까지 감소시켰다. 액체유량은 자기유도 유량계(Alto flux X-1000, B.V. Altometer, Slieden)를 이용하여 측정하였다. 호기성 균주에 필요한 산소는 압축공기를 주탑의 하단에 설치된 기체분산기를 통하여 공급하였다. 기체분산기로는 50 µm 기공의 스테인레스스틸 소결판을 사용하였으며 기체유량은 로타미터로 측정하였다. 본 연구에서는 주탑에서의 기체공급유속을 0.1 m/s로 유지하였다.

### 2-2. 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 *X. campestris* NRRL B1459 S-4LII이다. 균주의 보존배양에는 YMG[조성(kg/m<sup>3</sup>): yeast extract, 3; malt extract, 3; peptone, 5; 포도당 단수화물, 10] 한천을 이용한 고형 배지를 사용하였다. 같은 조성의 YMG 액체배지는 일차종균배양에 사용하였고, 이차종균배양에는 생물반응기에서의 생산발효에 사용한 포도당을 탄소원으로 염화암모늄을 질소원으로 이용한 합성 배지를 사용하였는데 그 조성(kg/m<sup>3</sup>)은 포도당 단수화물, 55; citric acid monohydrate, 2.3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5; NH<sub>4</sub>Cl, 2; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.5; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.114; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.163; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.029; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.0024; ZnCl<sub>2</sub>, 0.0067; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.006이다[6]. 포도당용액은 다른 성분과 분리하여 멸균하였다.

### 2-3. 배양방법

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

생물반응기는 1기압(계기압력) 121℃의 수증기로 30분 동안 멸균한 다음 생산발효배지를 주입하고 삼각플라스크에서의 이차종균

배양으로 식균하였다. 접종 후 생산발효기 내에 공기를 주입하면서 발생하는 거품은 소포제(Desmophen 3600, Bayer AG)를 사용하여 제거하였다. 발효온도는 28℃를 유지하였고 배양액의 pH는 10% NaOH 수용액을 사용하여 7 이하로 떨어지는 것을 방지하였다. 높은 공기유속을 사용함에 따른 배양액에서의 물의 손실은 멸균 처리한 탈이온수를 계속 첨가함으로써 보정하였다.

### 2-4. 분석방법

세포의 건조중량은 채취한 발효액의 점도를 낮추기 위해 1 wt% KCl 용액으로 희석시킨 후 세포를 원심분리(30 min, 38000 g, 4℃)한 다음 물로 세척하여 재원심분리한 후 40℃ 진공상태에서 48시간 건조시켜 측정하였다. Xanthan의 건조중량은 배양액에서 원심분리로 세포를 제거한 후 에탄올을 첨가하여 원심분리(30 min, 38000 g, 20℃)로 xanthan을 침전시킨 다음 KCl 용액으로 용해하여 재침전 원심분리한 후 40℃ 진공상태에서 48시간 동안 건조하여 측정하였다. 배양액의 포도당농도는 채취액에서 세포를 제거한 후 포도당 분석기(Model 27, YSI, Yellow Springs)를 이용하여 측정하였다. Xanthan의 분자량분포는 differential refractometer detector(Model 156, Beckmann)를 장착한 HPLC system(Pump M-116, Beckmann)에 2기의 gel-column(TSK-6000/5000 PW, Toyo Soda)을 직렬로 연결한 크기별 배제 크로마토그래피를 이용하여 측정하였다[14]. 감정을 위한 표준시료로는 Low Angle Laser Light Scattering 방법으로 측정된 분자량 3.3·10<sup>6</sup>과 10.0·10<sup>6</sup> kg/kmol의 xanthan을 사용하였다.

배양액의 유변학적 특성은 동축회전 원통점도계(Model 115, Contraves AG, Zürich)를 이용하여 측정하였다. 10-3000 s<sup>-1</sup> 범위 내의 일정한 전단속도  $\dot{\gamma}$ 에서 나타나는 전단응력  $\tau$ 는 Oswald-de Waele의 상관식 식 (6)으로 잘 묘사할 수 있었다.

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (6)$$

가소성 유변학적 특성을 나타내는 배양액의 생물반응기에서의 유효점도  $\mu_{eff}$ 는 유효전단속도  $\dot{\gamma}_{eff}$ 로부터 다음과 같이 계산된다.

$$\mu_{eff} = k \cdot \dot{\gamma}_{eff}^{n-1} \quad (7)$$

여기서 유효전단속도는 반응기의 형태 및 운전조건에 영향을 받는다.

단위액상체적당 기-액 산소전달속도 OTR은 기상의 산소수지식인 식 (8)로부터 산출할 수 있다.

$$OTR = 3600 \cdot 32 \cdot \frac{\dot{N}_G}{V_L} \left( \frac{y_{O_2,i} - y_{O_2,o}}{1 - y_{O_2,o} - y_{CO_2,o}} \right) \quad (8)$$

반응기 폐가스 중의 산소농도  $y_{O_2,o}$ 와 이산화탄소농도  $y_{CO_2,o}$ 는 상자기 산소분석기(Oxygen 6N, Maihak AG, Hamburg)와 적외선 이산화탄소분석기(Defor, Maihak AG, Hamburg)로 각각 측정하였다. 단위액상체적당 기-액 산소전달계수  $k_L a'$ 는 측정된 OTR과 식 (3)을 이용하여 다음과 같이 산출할 수 있다.

$$k_L a' = \frac{OTR}{3600 \cdot (C_L^* - C_L)} \quad (9)$$

여기서 포화용존산소농도  $C_L^*$ 는 용존염과 포도당의 염석효과와 정수압의 영향을 고려해 산출하였고[15], 용존산소농도  $C_L$ 는 산소전극을 이용하여 측정하였다. 삼상유동층 반응기는 유동층 부분과 기-액 이상흐름 부분으로 구분할 수 있으며 식 (9)를 이용하여

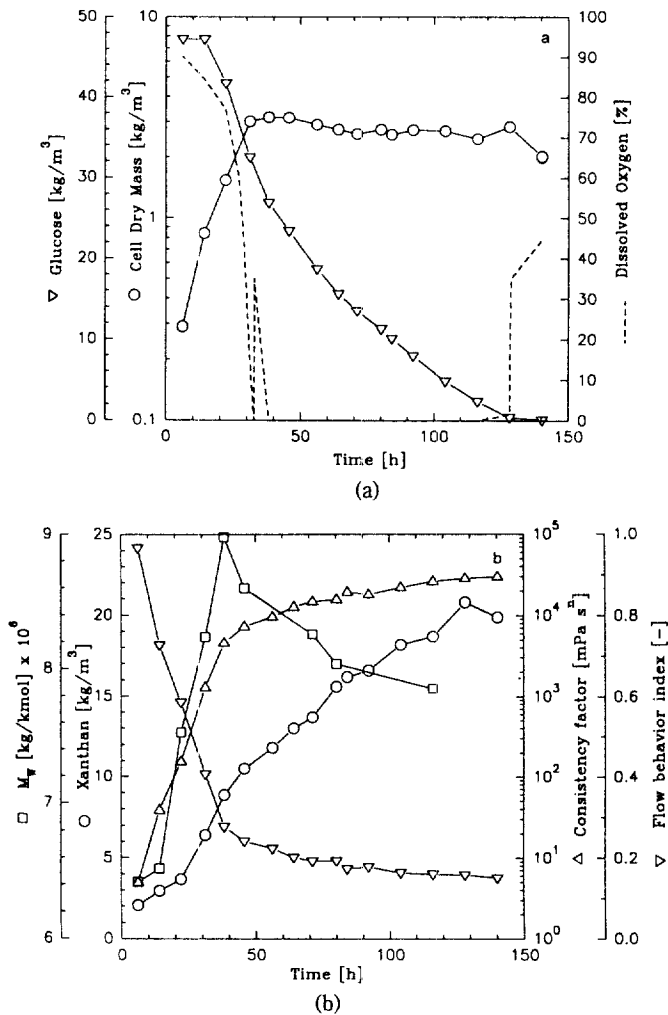


Fig. 3. Time-course of a batch xanthan fermentation in a bubble column at the gas velocity of 0.10 m/s.

삼상유동층에서의  $k_L a'$ 를 산출하기 위하여 기상산소수지식으로 측정 산출한 전반응기에 대한 기-액 산소전달속도에서 기-액 이상흐름 부분에서의 전달속도를 제하여 산출하여야 한다. 이 때 기-액 이상흐름 부분에서의 기-액 산소전달속도는 기포탐 반응기에서의 xanthan 발효에서 검증된 바 있는 단위체적당 기-액 물질전달계수에 관한 실험식을 이용하여 산출하였다[9, 16].

### 3. 결과 및 고찰

#### 3-1. 기포탐 반응기에서의 발효

기포탐 반응기에서의 0.10 m/s의 공기 공탐유속을 사용한 전형적인 회분식 xanthan 발효의 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 세포는 질소원인 염화암모늄이 고갈될 때까지( $t=32.7$  h) 지수증식을 하였다. 최대 비증식속도는  $0.09 \text{ h}^{-1}$ 의 값을, 그리고 최대 건조세포농도는  $3.16 \text{ kg/m}^3$ 의 값을 나타내었다. 세포 증식기 동안에는 세포농도가 증가함에 따라 산소요구량이 증가하여 용존산소농도는 감소하였다. 따라서 기-액 산소전달의 구동력이 증가되어 기-액 산소전달속도는 증가되었다[식 (3)]. 세포증식이 종식된 후에는 산소요구량이 감소하여[식 (2)], 용존산소농도가 증가하게 된다. 정상기에서는 식 (2)의 오른쪽 둘째항으로 나타내지는 산소요구량은

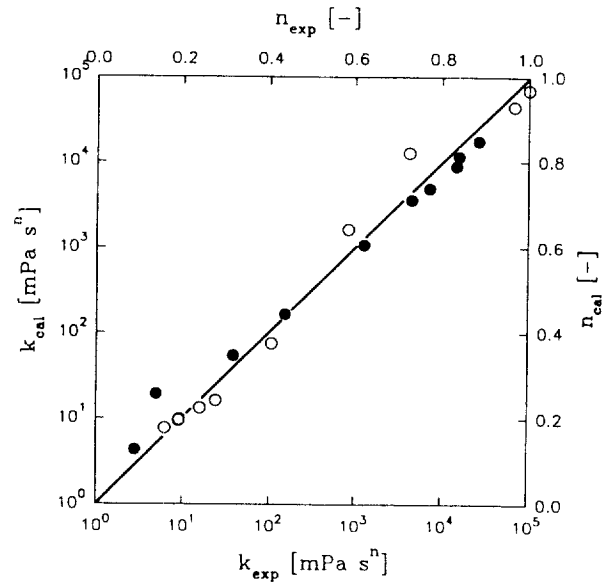


Fig. 4. Comparison of fluid consistency factor  $k_{exp}$  and flow behavior index  $n_{exp}$  measured during xanthan fermentation in the bubble column reactor with the predictions by Eqs. (10) and (11) from Peters et al.[8]; (●) for  $k$  and (○) for  $n$ .

일정하지만 배양액에 발효생성물 xanthan이 계속 축적되어 배양액의 점도를 증가시킨다. 배양액의 점도증가는 기-액 산소전달계수  $k_L a'$ 를 감소시키어[16] ( $k_L a' \propto \mu_{eff}^{-0.74}$ ), 용존산소가 다시 고갈될 때까지( $t=38.2$  h) 산소요구량은 용존산소농도가 감소됨으로서 충족된다. 용존산소가 고갈된 후에는 기-액 산소전달의 구동력이 더 이상 증가되지 않아 산소전달량은 균의 산소요구량을 충족시키지 못하게 되어 균은 산소공급제한 조건 하에 있게 된다.

발효 중 xanthan 농도와 유변학적 성질인 유체일관성인수  $k$ 와 흐름거동지수  $n$  그리고 xanthan의 질량평균 분자량  $M_w$ 의 변화를 Fig. 3b에 나타내었다. Xanthan농도는 발효 초기의  $2.1 \text{ kg/m}^3$ 에서 발효종료 시  $20 \text{ kg/m}^3$ 로 증가하였다.  $k$ 값은 5에서  $29970 \text{ mPa} \cdot \text{s}^n$ 으로 증가하였고,  $n$ 값은 0.966에서 0.151로 감소하였다(이러한 유변학적 특성의 변화는, 사용한 반응기 운전조건을 고려하면, 4.13에서  $251 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 의 배양액 유효점도의 증가를 의미한다). 유변학적 성질에 커다란 영향을 미치는 xanthan 분자량은 세포 증식기 동안에는 급격히 증가하다가 세포 정상기에는 감소함을 Fig. 3b에 나타낸다. 정상기 동안의 xanthan 분자량이 감소하는 이유는 식 (5)가 나타내는 바와 같이 세포가 이 기간 동안에 생산하는 xanthan의 분자량이 균에 공급되는 산소량에 영향을 받기 때문이다. 즉 배양액 점도 증가에 따른 기-액 산소전달속도의 감소로 산소공급량이 줄어들기 때문이다. 따라서 발효가 진행됨에 따라 생산되는 xanthan 및 배양액 중에 용해 축적되어 있는 xanthan의 질량평균 분자량은 산소공급제한 조건 하의 세포 정상기에는 감소하게 된다. 발효초기에 나타나는 작은 분자량은 진탕 종균배양에서 균이 심한 산소공급제한 조건 하에 있었기 때문인 것으로 생각된다.

배양액의 유효점도를 결정하는 유체일관성인수와 흐름거동지수는 xanthan의 농도  $P$ 와 질량평균 분자량에 다음과 같이 영향을 받는다[8].

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

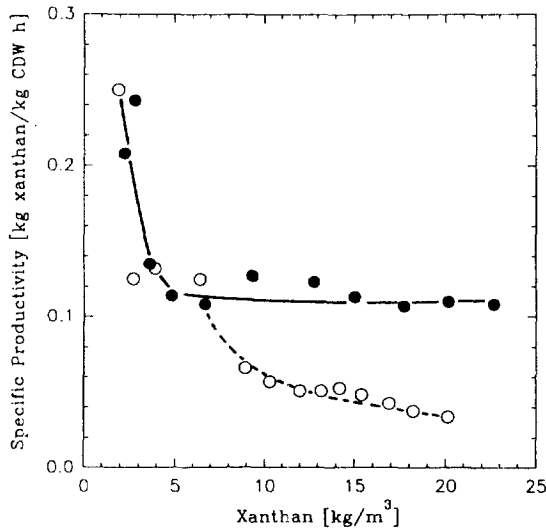


Fig. 5. Specific xanthan production rates as a function of xanthan concentration in the bubble columns at the air velocities of 0.361 m/s (●) without oxygen limitation (—) [9] and of 0.10 m/s (○) exhibiting oxygen limitation at high xanthan concentrations (---).

$$\frac{1-n}{n-0.071} = 0.0227(M_H/10^6)^{2.08} (k-10^{-3})^{0.47} \quad (11)$$

본 연구의 결과와 식 (10)과 식 (11)에 의한 예측결과를 Fig. 4에서 비교하였으며 서로 잘 일치함을 보인다. 식 (10)에 의하면 유체일관성인수  $k$ 는 xanthan 농도와 분자량이 증가함에 따라 크게 증가하고, 식 (11)에 의하면 흐름저항지수 또한 xanthan 분자량에 영향을 받아 분자량이 증가함에 따라  $n$ 값은 감소하여 강한 가소성을 나타냄을 알 수 있다. Herbst 등[2]은 xanthan의 점도수율은 분자량의 4.5 지수에 비례하여 증가한다고 보고한 바 있다.

기포탑 반응기에서 0.10 m/s의 공기유속을 사용한 발효에서의 세포의 xanthan 비생산성[kg-xanthan/kg-CDW·h]을 xanthan 농도에 대해 Fig. 5에 나타내었다. 산소공급제한이 일어나지 않은 경우의 비생산성과 비교하기 위하여 0.35 m/s의 높은 공기유속을 사용한 발효의 결과를 함께 나타내었다[9]. 비생산성은 산소공급제한이 일어나지 않은 낮은 xanthan 농도에서 급격히 감소하였고, 정상기 동안에는 높은 공기유속을 사용한 경우 평균 0.107 kg-xanthan/kg-CDW·h의 일정한 값을 보인 반면에 낮은 공기유속을 사용한 경우는 계속 감소하는 경향을 나타내었다. 산소공급제한을 전혀 보이지 않은 낮은 xanthan 농도에서의 비생산성 감소는 xanthan의 생성속도가 식 (1)과 같이 부분적으로 세포증식속도에 연관되기 때문인 것으로 설명할 수 있다. 즉 낮은 xanthan 농도를 나타내는 발효초기의 세포 증식기 동안에는 세포증식에 의한 기여로 정상기에 비해 높은 비생산성을 보인다. 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상기에서의 산소공급제한 조건 하에서 비생산성이 감소하는 경향은 xanthan 농도가 증가함에 따라 배양액의 점도가 증가하여 기-액 산소전달속도가 감소함으로써 세포에 대한 산소공급속도가 감소하기 때문이다[식 (4)].

### 3-2. 삼상유동층 반응기에서의 발효

삼상유동층 생물반응기에서의 xanthan 생산 결과를 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 3에 나타난 기포탑에서의 발효결과와 직접 비교가

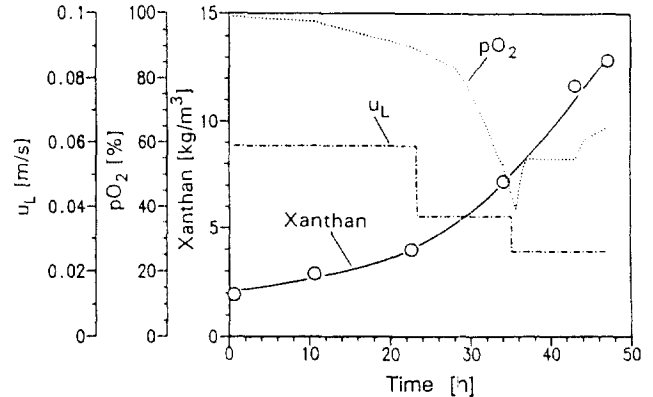


Fig. 6. Xanthan production in a three phase fluidized bed bioreactor at the air velocity of 0.10 m/s.

가능하도록 균의 지수 성장기를 일치시키는 발효시간을 사용하였다. 공기유속은 발효 전과정에 걸쳐 0.10 m/s의 값에 고정시켰으며, 반응기에서의 액체 공탁속도는 발효초기 0.059 m/s에서 배양액 점도가 증가함에 따라 총팽창이 일어나 단계적으로 줄여서 배양액 순환펌프의 최소용량이 허용하는 0.026 m/s까지 감소시켰다. Xanthan 농도가 12.9 kg/m³값에 도달한 후에는 유동층이 입자 유출을 막기 위해서 주탑 상단에 설치한 스크린까지 팽창하여 발효를 중단시켰다. 용존산소농도는 세포성장으로 인해서 산소요구량이 증가함에 따라 감소하여 40%의  $pO_2$ 에 도달한 후에는 질소원 고갈로 인해 세포증식이 종식되어 산소요구량이 감소됨으로서 증가하는 경향을 나타내었다. 같은 공기유속을 사용한 기포탑에서는 8.8 kg/m³의 xanthan 농도에서 산소공급제한이 발생하였으나(Fig. 3), 삼상유동층 반응기에서는 xanthan 농도가 12.9 kg/m³의 값을 나타낼 때까지 산소공급제한이 일어나지 않았다. 외부순환루프(0.029 m³)에는 공기가 존재하지 않아 기-액 산소전달이 일어나지 않음에도 산소공급제한이 일어나지 않은 것은 삼상유동층 반응계의 유동층 부분( $V_L=0.021$  m³)에서의 기-액 산소전달속도가 높았기 때문이다.

삼상유동층 반응기에서의 발효종료 시( $t=47.1$  h) 보이는 xanthan 농도( $P=12.9$  kg/m³) 및 배양액의 유변학적 특성( $k=16545$  mPa·s,  $n=0.153$ )을 Fig. 3b에 나타난 기포탑 반응기에서 거의 같은 발효시간이 경과한 후의( $t=45.7$  h) 결과( $P=10.5$  kg/m³,  $k=7285$  mPa·s,  $n=0.241$ )와 비교하면, xanthan 농도의 차에 비해서 커다란 유변학적 특성의 차를 보임을 알 수 있다. 즉 삼상유동층 반응기에서 나타난 유체일관성지수의 값 16545 mPa·s와 거의 같은 값을 보이는 기포탑에서의 xanthan 농도는 약 16 kg/m³의 값을 보이나, 실제 삼상유동층에서 측정된 xanthan 농도는 이보다 작은 12.9 kg/m³의 값을 나타내었다. 이러한 결과는 기포탑 반응기에서의 산소공급제한이 생성물의 생성속도 외에 생성물의 분자량에도 영향을 미쳐 삼상유동층에 비해 작은 분자량의 xanthan이 생성되게 하였음을 의미한다[식 (10)].

### 3-3. 기-액 산소전달 성능의 비교

삼상유동층과 기포탑반응기에서 측정된 산소의 단위액상체적당 기-액 물질전달계수를 xanthan 농도에 대하여 Fig. 7에 나타내었다. Xanthan 농도가 증가함에 따라 기-액 물질전달계수는 감소하였고 삼상유동층은 기포탑에 비해 상당히 높은 기-액 물질전달계수값을 보임을 알 수 있다. 12 kg/m³의 xanthan 농도에서 삼상유동층이 기포탑에 비해 약 7배의 높은  $k_L a'$ 값을 보였다. 그 이유로 삼상유

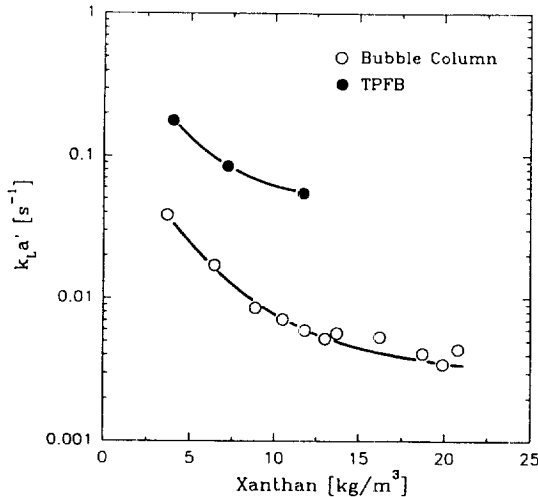


Fig. 7. Comparison of volumetric gas-liquid oxygen transfer coefficients in three phase fluidized bed with those in bubble column bioreactor at the air velocity of 0.10 m/s.

동충에서의 유효전단속도와 에너지투입속도의 증가를 우선 생각할 수 있다.

최근에 Suh 등[16]은 고점도 가소성 유체를 이용하여 기포탑에서의 단위액상체적당 기-액 물질전달계수에 관한 식 (12)로 표현할 수 있는 상관식을 제시한 바 있다.

$$k_L a' \propto \mu_{eff}^{-0.74} u_G^{0.51} \quad (12)$$

여기서 유효점도는 식 (7)을 이용하여 식 (13)으로 표현되는 기포탑 반응기에서의 유효전단속도로부터 계산된다[17].

$$\dot{\gamma}_{eff} = 2800 \cdot u_G \quad (13)$$

식 (12)는 삼상유동층에 적용하기 위하여 단위액상체적당 에너지 투입속도  $\dot{E}/V_L$ 를 이용하여 식 (14)로 변형될 수 있다.

$$k_L a' \propto \mu_{eff}^{-0.74} (\dot{E}/V_L)^{0.51} \quad (14)$$

삼상유동층은 고체 유동입자 때문에 기포탑에 비해 높은 유효전단속도의 값을 나타낸다. Schumpe 등[18]은 액-고 유동층에 대한 모세관 흐름모델을 기포탑에서의 실험식 결과와 결합시켜 삼상유동층에서의 유효전단속도에 관한 반이론적인 식 (15)를 제시하였다.

$$\dot{\gamma}_{eff} = 2800 \cdot \left( u_G - u_L \frac{\epsilon_G}{\epsilon_L} \right) + \frac{3n+1}{4n} \frac{12u_L \epsilon_S}{d_s \epsilon_L^2} \quad (15)$$

이 식에 의하면 유효전단속도는 12 kg/m<sup>3</sup>의 xanthan 농도( $k=12347$  mPa·s,  $n=0.189$ )에서 삼상유동층의 경우 450 s<sup>-1</sup>의 값을 기포탑의 경우 280 s<sup>-1</sup>의 값을 각각 나타내며 이들 유효전단속도의 값들은 87 mPa·s와 128 mPa·s의 유효점도를 각각 나타낸다. 따라서 식 (14)에 의하면 삼상유동층에서의 유효전단속도의 증가에 따른 유효점도의 감소는 기포탑에 비해 단지 30% 가량의 기-액 물질전달 계수의 증가를 유발할 뿐이다. 또 다른 기-액 물질전달계수를 증가시키는 요인인 단위액상체적당 에너지투입속도는 삼상유동층에서 다음과 같이 계산된다[19].

$$\dot{E}/V_L = \frac{1}{V_L} \left( \dot{N}_G R T \ln \frac{p_i}{p_o} + \dot{m}_G \frac{u_{G,i}^2}{2} + \dot{m}_L \frac{u_{L,i}^2}{2} \right) \quad (16)$$

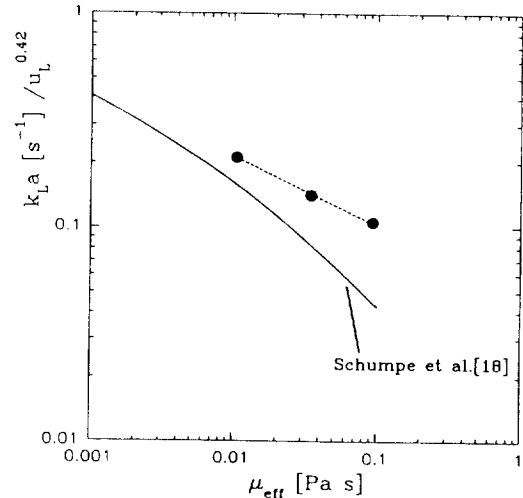


Fig. 8. Comparison of  $k_L a$  (●) observed during fermentation in TPFB to the prediction (—) from the correlation (17) proposed by Schumpe et al.[18].

( $d_s=0.008$  m;  $u_G=0.10$  m/s; The terminal velocity  $u_T$  of a single particle was estimated at a given effective viscosity with the method recommended by Clift et al.[20])

이 식에 의하면 삼상유동층은 4.24 kW/m<sup>3</sup>의 에너지투입속도가, 그리고 기포탑은 1.0 kW/m<sup>3</sup>의 값이 계산된다. 이는 식 (14)에 의하면 삼상유동층의 기-액 물질전달계수는 기포탑의 2.1배의 값을 나타내는 것으로 예측된다. 따라서 유효점도 인자를 함께 고려하면 삼상유동층에서는 기포탑에 비해 2.7배의  $k_L a'$  값이 예상되나 실제로 약 7배의 값이 측정되었다. 이는 유동입자의 또 다른 역할인 기포 분쇄 효과에 기인하는 것으로 생각된다. 앞서 언급한 바와 같이 Kim 등[13]은 낮은 점도 액체에서 3 mm 이상의 직경을 가지는 유리 입자를 사용할 경우에 유동입자는 기포를 분쇄하는 효과를 나타낸다고 하였다. 반면에 Schumpe 등[18]은 높은 점도의 액체를 사용할 경우 액체의 점도가 증가함에 따라 고체입자의 침강속도가 감소되어 기포분쇄효과가 줄어들어 삼상유동층에서의 기-액 물질전달계수는 기포탑에 비해 급격히 감소한다고( $k_L a \propto \mu_{eff}^{-1.0}$ ) 보고하였다.

삼상유동층에서의 단위체적당 기-액 산소전달계수를 유효점도에 대해서 Fig. 8에 나타내었다. 유효점도 산출에 필요한 유효전단속도는 식 (15)를 이용하여 계산하였으며, 비교하기 위하여 Schumpe 등[18]이 제안한 식 (17)의 예측결과도 함께 나타내었다.

$$k_L a = 2988 \cdot D_L^{0.5} u_G^{0.44} u_L^{0.42} \mu_{eff}^{0.34} u_T^{0.71} \quad (17)$$

여기서  $u_T$ 는 고체입자의 가소성유체에서의 자유침강속도이며, 본 연구에서는 측정하지 않아 Clift 등[20]에 의해 추천된 방법으로 주어진 유효점도의 조건에서 산출하였다. 발효 중 배양액 순환속도를 변화시켰기 때문에 액상유속 변화의 기-액 물질전달계수에 대한 영향을 식 (17)을 이용하여 보정하였다. 식 (17)은 본 연구에서 측정된 기-액 물질전달계수에 비해 42%의 평균오차를 가지고 낮은 값을 나타내었다. 삼상유동층 생물반응기에서 측정된  $k_L a$  값은 유효점도가 증가함에 따라 -0.32의 지수로 감소하였다. 이러한 변화는 기포탑에서의 변화( $k_L a' \propto \mu_{eff}^{-0.74}$ )와 비교하면 상당히 완만한 감소이고, Schumpe 등의 삼상유동층에서의 결과와 비교하면 낮은 점도범위에서의 변화( $k_L a \propto \mu_{eff}^{-0.30}$ )와 거의 같음을 나타낸다.

탐형, 교반식 및 high turbulence plunging jet(HTPJ) 반응기의

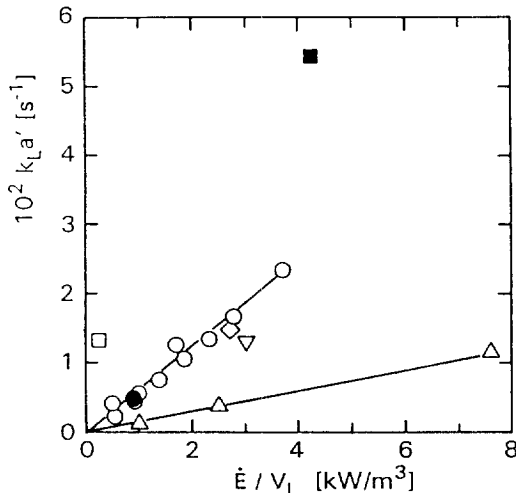


Fig. 9. Volumetric gas-liquid mass transfer coefficients of various bioreactors as a function of energy input rate at the fluid consistency factor of about 11 Pa·s<sup>-1</sup>.

(○, bubble column[9, 16]; ●, air-lift[9]; ■, three phase fluidized bed; □, high turbulence plunging jet HTPJ[22]; ◇, stirred tank reactor STR with draft tube[12]; ▽, STR with INTERMIG impeller[2]; △, STR with Rushton turbine impeller[2])

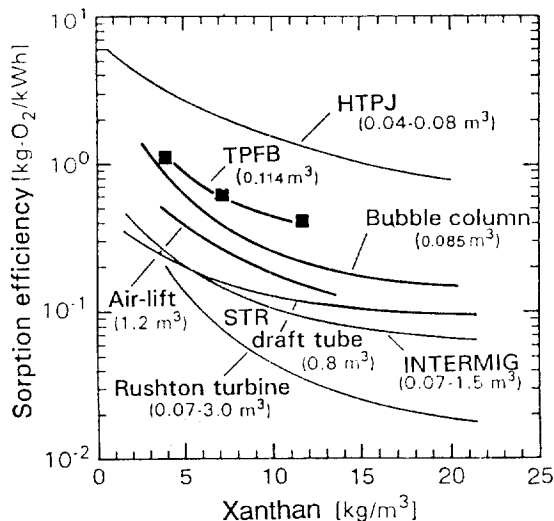


Fig. 10. Sorption efficiency of various bioreactors as a function of xanthan concentration.

11 Pa·s<sup>-1</sup>의 유체일관성인수를 보이는 배양액 또는 xanthan 수용액에서 측정된 단위액상체적당 기-액 물질전달계수를 단위액상체적당 에너지투입속도에 대해 Fig. 9에 나타내어 서로 비교하였다. 삼상유동층이 다른 형의 반응기에 비해 상당히 높은 기-액 물질전달계수를 보인 반면에 표준교반기인 Rushton-turbine을 장착한 교반기 반응기에서는 가장 낮은 값을 보였다. 또한 Rushton-turbine 교반기 반응기와 기포탑 반응기에서 측정된 기-액 물질전달계수는 에너지투입속도에 거의 선형적인 비례관계를 나타냄을 알 수 있다. 기포탑의 경우 식 (14)는 단위체적당 에너지투입속도에 대해 0.51의 지수값을 보이나 에너지투입속도는 배양액의 유효점도에 간접적으로 영향을 미쳐 강한 가소성 액체에서는 거의 선형적인 비례관

계를 보인다[21].

Fig. 9에서 비교한 반응기들에서의 단위에너지투입속도당 산소전달속도인 산소흡수효율을 xanthan 농도에 대해서 Fig. 10에 나타내었다. 산소전달속도는 각 반응기에서 측정된 단위액상체적당 기-액 산소전달계수를 이용하여 산출하였으며, 이 때 정수압의 포화 용존산소농도에 대한 영향을 무시하여 모든 반응기에 같은 최대값의 기-액 산소전달 추진력을 적용하였다. 반응기에서의 산소흡수효율은 xanthan 농도가 증가함에 따라 즉 배양액의 점도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 특히 HTPJ 반응기는 공기리프트, 기포탑 및 삼상유동층과 같은 탑형반응기에 비해 높은 효율을 나타내었다[22]. 그러나 Fig. 9에 나타난 바와 같이 HTPJ 반응기에서 외부순환 펌프에 의해 공급되는 에너지의 양은 극히 제한되어 반응기를 통해 최대로 전달할 수 있는 산소의 양 또한 매우 제한된다. 뿐만 아니라 반응기 벽 부근에서는 배양액이 거의 정체되어 배양액의 혼합에 문제가 있으며 반응기 벽에 설치되는 재킷형의 열교환기를 통한 냉각방법으로는 최적 배양온도를 유지하는데 심각한 문제를 초래한다. 배양액 혼합의 문제는 교반기 특히 표준형 교반기를 장착한 반응기에서도 자주 나타난다. 교반기 반응기에서의 이러한 문제는 직경이 큰 INTERMIG 교반기를 사용함으로써 어느 정도 해결되며 Fig. 10에 나타난 바와 같이 산소흡수효율 또한 증가시킬 수 있다. 그러나 교반기의 회전수를 증가시켜 에너지투입속도를 증가시키면 반응기가 심하게 진동하여 투입할 수 있는 최대 에너지의 양이 약 3.3 kW/m<sup>3</sup>로 제한되었다[2, 12].

#### 4. 결 론

기포탑 및 삼상유동층 생물반응기에서의 회분식 xanthan 발효의 결과를 다음과 같이 요약 정리할 수 있다.

- (1) 세포 증식기 동안에 생성되는 xanthan의 비생산성과 분자량은 정상기에 비해 높은 값을 나타내었다.
- (2) 산소공급제한 조건 하의 정상기에서는 xanthan 비생산성과 분자량은 기-액 산소전달속도가 감소함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.
- (3) 배양액의 유변학적 특성을 나타내는 유체일관성인수 및 흐름저항지수는 xanthan 농도와 분자량에 영향을 받는다.
- (4) 회분식 xanthan 발효 중 상당한 배양액 유효점도의 증가로 인한 총팽창 때문에 삼상유동층 반응기의 운전은 제한된 xanthan 농도의 범위 내에서 가능하였다.
- (5) 삼상유동층의 직경 8.0 mm 유리 유동입자는 고점도 배양액에서도 기포를 분쇄하는 효과를 나타내어 기포탑에 비해 높은 기-액 물질전달계수 및 단위에너지투입속도당 산소흡수속도를 나타내었다.

삼상유동층 생물반응기의 높은 산소흡수효율 및 에너지투입속도 그리고 운전의 복잡성을 동시에 고려할 때, 삼상유동층은 회분식 xanthan 생산공정보다는 발효 중 일정한 배양액의 유변학적 특성을 보이는 연속생산공정에 더 적합할 것이라는 결론에 도달할 수 있다.

#### 감 사

Deutsche Forschungsgemeinschaft와 한국과학재단 1995년도 핵심전문연구의 재정적 지원과 Braunschweig 공과대학교의 A. Schumpe 교수의 조언에 깊은 감사를 표합니다.

## 사용기호

- A : parameter characterizing the growth-related xanthan production [Eq. (1)] [kg-xanthan/kg-CDM]
- B : specific xanthan productivity in the stationary phase [Eq. (1)] [kg-xanthan/kg-CDM·h]
- C : parameter characterizing the growth-related oxygen demand [Eq. (2)] [kg-O<sub>2</sub>/kg-CDM]
- CDM : cell dry mass
- C<sub>L</sub>(C<sub>L</sub><sup>\*</sup>) : (saturated)dissolved oxygen concentration [kg/m<sup>3</sup>]
- D : specific oxygen demand in the stationary phase [Eq. (2)] [kg-O<sub>2</sub>/kg-CDM·h]
- d<sub>s</sub> : diameter of fluidized particles [m]
- $\dot{E}$  : energy input rate [J/s]
- k : fluid consistency factor [Pa·s<sup>n</sup>]
- k<sub>L</sub>a'(k<sub>L</sub>a) : volumetric gas-liquid mass transfer coefficient referred to liquid (reactor) volume [1/s]
- $\dot{m}$  : mass flow rate [kg/s]
- M<sub>w</sub> : weight average molecular weight of xanthan [kg/kmol]
- M<sub>w</sub><sup>\*</sup> : M<sub>w</sub> of instantaneously produced xanthan [kg/kmol]
- n : flow behavior index [-]
- $\dot{N}$  : molar gas flow rate [kmol/s]
- OTR : gas-liquid oxygen transfer rate [kg/m<sup>3</sup>·h]
- p : pressure [Pa]
- P : xanthan concentration [kg/m<sup>3</sup>]
- Q<sub>O<sub>2</sub></sub> : microbial oxygen demand [kg/m<sup>3</sup>·h]
- R : gas constant [J/K·kmol]
- t : fermentation time [h]
- T : temperature [K]
- u : superficial velocity [m/s]
- u<sub>T</sub> : terminal velocity of a single particle [m/s]
- V<sub>L</sub> : volume of liquid in reactor [m<sup>3</sup>]
- X : cell dry mass concentration [kg/m<sup>3</sup>]
- y : mole fraction [-]

## 그리스 문자

- $\dot{\gamma}$  : shear rate [1/s]
- $\epsilon$  : phase holdup [-]
- $\mu$  : viscosity [Pa·s]
- $\tau$  : shear stress [Pa]

## 하첨자

- cal : values calculated from correlation
- CO<sub>2</sub> : carbon dioxide
- eff : effective
- exp : values observed experimentally
- G : gas
- i : inlet
- L : liquid
- o : outlet

- O<sub>2</sub> : oxygen
- S : solid

## 참고문헌

- Margaritis, A. and Pace, G. W.: Comprehensive Biotechnology (M. Moo-Young ed.), Vol. 3, 1005, Pergamon, Toronto(1985).
- Herbst, H., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Chem. Eng. Technol.*, **15**, 425(1992).
- Weiss, R. M. and Ollis, D. F.: *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 859(1980).
- Pinches, A. and Pallent, L. J.: *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 1484(1986).
- Peters, H.-U., Herbst, H., Suh, I.-S., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: Biomedical and Biotechnological Advances in Industrial Polysaccharides(Crescenzi et al. ed.), pp 275-281, Gordon and Breach, New York(1989).
- Peters, H.-U., Herbst, H., Hesselink, P. G. M., Lünsdorf, H., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Biotechnol. Bioeng.*, **34**, 1393(1989).
- Suh, I.-S., Herbst, H., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Biotechnol. Lett.*, **12**, 201(1990).
- Peters, H.-U., Suh, I.-S., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Can. J. Chem. Eng.*, **70**, 742(1992).
- Suh, I.-S., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Biotechnol. Bioeng.*, **39**, 85(1992).
- Peters, H.-U., Suh, I.-S., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Biotechnol. Lett.*, **15**, 565(1993).
- Deckwer, W.-D., Schumpe, A. and Suh, I.-S.: Ger. Offen. DE 3834443 A1(10. 10. 1988).
- Herbst, H., Suh, I.-S., Peters, H.-U., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: DECHEMA Biotechnology Conferences, Vol. 3, pp 495-498, VCH, Weinheim(1989).
- Kim, S. D., Baker, C. G. J. and Bergougnou, M. A.: *Can. J. Chem. Eng.*, **50**, 695(1972).
- Herbst, H., Peters, H.-U., Suh, I.-S., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Biotechnol. Tech.*, **2**, 101(1988).
- Schumpe, A., Quicker, G. and Deckwer, W.-D.: *Adv. Biochem. Eng.*, **4**, 1(1982).
- Suh, I.-S., Schumpe, A., Deckwer, W.-D. and Kulicke, W.-M.: *Can. J. Chem. Eng.*, **69**, 506(1991).
- Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Bioprocess Eng.*, **2**, 79(1987).
- Schumpe, A., Deckwer, W.-D. and Nigam, K. D. P.: *Can. J. Chem. Eng.*, **67**, 873(1989).
- Nguyen-Tien, K., Patwari, A. N., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *AIChE J.*, **31**, 194(1985).
- Clift, R., Grace, J. R. and Weber, M. E.: "Bubbles, Drops, and Particles", Academic Press, New York(1978).
- Suh, I.-S. and Schumpe, A.: *Chem.-Ing.-Tech.*, **64**, 560(1992).
- Zaidi, A., Ghosh, P., Schumpe, A. and Deckwer, W.-D.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 330(1991).