

生 物 化 學 工 學

南 宮 寔*

“微生物의 生物學的, 生化學的 機能을 利用하여 有用製品을 工業的으로 生産하는데 必要한 Process의 操作 및 裝置의 設計를 研究對象으로 하는 化學工學의 한 領域” —Biochemical Engineering—

緒 言

最近의 化學工學의 새로운 몇가지 領域으로서 重合反應工學, 放射線反應工學, 生物化學工學 등을 들을 수 있겠다.

Biochemical Engineering의 定義로서 上記한 것은 先進들의 몇가지 Biochemical Engineering에 對한 定義¹⁾를 통하여 엿볼 수 있는 化學工學者에 對한 要望事項을 抽出한 것이다.

微生物에 對한 常識조차 없음에도 불구하고 生物化學工學을 論한다는 것은 甚히 괴로운 일이어서 몇가지 工夫한 것을 紹介함으로써 重責의 一端을 마치고저 한다.

微生物工業의 發達과 化學工學

微生物을 利用하는 工業은 古來의 酒類 및 醱酵食品의 製造에서 始作된 것이며, 今世紀에 이르러 製糖酵母를 비롯한 食用, 飼料酵母製造와 工業用溶劑, 有機酸類, 그리고 酵素劑의 製造法이 開發됐다.

그러나 化學工學과 醱酵을 爲主로한 微生物工業의 在來의 工業技術, 그리고 純正科學인 微生物學 및 生化學의 有機的協同은 penicillin發見을 契機로한 抗生物質의 製造工業의 確立段階에서 이루어졌던 것이다.

뒤이어 vitamin, hormon 등의 生理活性劑製造, amino acid 등의 化學調味料製造, 工業廢水處理 技術이 確立되어 왔고, 특히 現在 脚光을 받고 있는 研究課題로서 石油系炭化水素를 原料로한 化學調味料, 蛋白質食品製造 其他 微生物을 利用한 金屬精鍊, 石油潤滑의 脫硫 및 脫蠟 등이 있으며, 그 모든 것에 實用化段階에 있어서는 化學工學者의 參與가 必要한 것으로 생각된다.

前記한 初期에 있어서의 penicillin製造法의 技術의 難點은 첫째로는 얻어진 醱酵液의 penicillin의 濃도가 極히 낮다는 것과 둘째로는 penicillin自體가 活性을 잃기 쉬운 物質이어서 最終製品의 濃縮分離가 大端히 어

렵다는 것이었다.

濾過, 抽出, 吸着, 濃縮 등의 單位操作의 하나하나가 微生物學者, 生化學者, 微生物遺傳學者와 化學工學者의 協同에 依하여 檢討되어 特殊한 分離法이 確立되었었다.

특히 生産量增加를 爲한 裝置의 scale up의 用務는 化學工學者에 依하여 遂行되어 왔다.

다음에 微生物에 對한 最小限度의 知識을 간추려 보기로 하겠다.

有用微生物의 形態的分類와 酵素

여기서 有用微生物이란 實際로 微生物工業에서 쓰이고 있다는 뜻이며, 形態的分類란 分類法이 여러가지 있기 때문에 말한 것이다.

微生物(microorganism 또는 microbe)을 다음과 같이 세가지로 通俗的으로 類別할 수가 있다.



Saccharomyces Streptococcus lactis Penicillium notatum
(그림 1)

i) 酵母(yeast) : $(4\sim8) \times (5\sim12)\mu$

ii) 細菌(bacteria) : $0.5\sim2.0\mu$

iii) 곰팡이(fungi) : $\Sigma(4\sim20)\mu$

그림 1에 酵母 Saccharomyces carls bergensis, 細菌 Streptococcus laticus와 곰팡이 Penicillium notatum을 例示했다.

곰팡이는 草木과도 같은 形態로 하나 하나는 $4\sim20\mu$ 의 代表치수를 가졌으나 이것들이 連結된 非單細胞微生物(non single cell—: nucleated cells)이며, 酵母와 細菌은 前者가 크다. 그림에서 볼 수 있는 바와 같이 細胞分裂의 樣相도 달라서, 前者는 budding, 後者는

fission 인 것이다.

또한 酵母과 細菌은 곰팡이와는 달리 單細胞微生物(single cell-)이라는 點이 같고, 3 者에 共通한 事實은 이들은 培養中에 여러 種類의 酵素(enzyme)를 自己細胞의 內外部에 生成·分泌한다는 것이다.

좀 더 詳細히 말하자면 酵母는 內部에만 分泌하고, 細菌中에는 內部에만 生成하는 것, 外部에만 分泌하는 것, 內部와 外部에 生成·分泌하는 것이 있으며, 그中에는 內部와 外部에 種類가 다른 酵素를 生成·分泌하는 것들이 있다.

세삼스럽게 말할 것도 없이 酵素야 말로 生體內(in vivo)에서는 勿論 生體外部(in vitro)에서도 極히 選擇的인 化學反應의 觸媒作用을 하는 蛋白質物質(無生物, 高分子)이다.

酵素는 生細胞內에서만 合成되며, 아직 in vitro 에서는 合成된例가 없다. 그리하여 微生物의 利用이란 化學的으로는 酵素作用의 活用인 것이다.

微生物利用工業의 類別

單細胞微生物의 化學的成分을 보면 水分이 約 80% 이나 乾燥量基準으로 볼 때는 그 50%內外가 蛋白質을 알 수가 있다.

한편 一例로서 細菌 Escherichia coli 는 實로 2,000 種의 酵素를 가지고 있음이 確認되고 있으며 環境에 따라서는 그 以上の 種類의 酵素를 가질 可能性이 있다 한다. (표·1³⁾ 參照)

微生物工業은 다음의 두가지로 大別할 수가 있다.

i) 菌體利用(培養)

ii) 代謝·分解物利用(醱酵)

i)에 屬한 것으로는 單細胞蛋白質(Single cell protein)의 製造, 酵母製造等を 들을 수 있으며 ii)에 屬한 것

표 1 微生物의 化學的 組成

微 生 物	(乾燥 量基準 %)		
	蛋白質	核 酸	脂 肪
細 菌	40~50	13~25	10~15
酵 母	40~50	4~10	1~ 6
곰 팡 이	10~25	1~ 3	2~ 7
海藻(單細胞)	10~60 (50)	1~ 5 (3)	4~80 (10)
viruses	50~90	5~50	<1

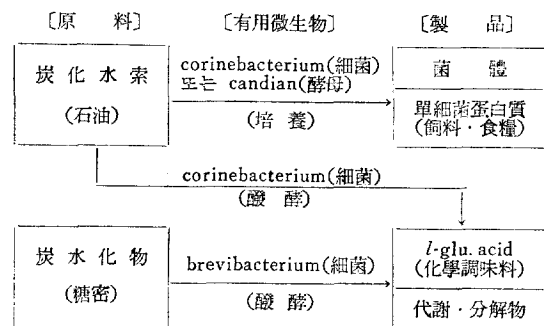
으로는 醱酵法에 依한 酒類, 溶劑, 抗生物質, 有機酸, 化學調味料製造 등을 들을 수 있다. 金屬精鍊, 石油溜分の 脫硫 및 脫蠟도 이에 屬한다.

이 以外에 製品이나 原料에 따라서 類別할 수도 있으나 그림 2 과와 같은 關係圖에서 이들의 連關性을 理

解할 수가 있을 것이다.

다만 보다 깊은 理解를 爲해서는 細菌의 繁殖에 必要한 energy 를 特定된 化學反應(酵素反應)의 反應熱에 依하여 充當하고 炭素源으로서는 大氣中の 炭酸 gas 가 있으면 足한 獨立營養菌(autotrophic microbe)과 炭素源으로서 特定된 有機原料를 必要로 하는 從屬營養菌(hetero trophic microbe)가 있다는 것과 同一한 製品을 얻는데 原料를 代替하려면 具體的으로는 그 原料를 資化(assimilation)할 수 있고 生産物을 大量으로 生成蓄積할 수 있는 有用菌株을 地球上에서 찾아내야 하는 것이다.

그림 2 微生物工業의 原料와 製品의 關係圖(1例)



有用菌의 檢索·前培養·醱酵

먼저 有用菌의 檢索過程을 말하자면 目的의 菌이 棲息하는 곳의 土壤이나 其他의 分離源으로부터 適當한 檢索方法(plate culture, Lindner's drop culture, micro-manipulation 등)에 依하여 細胞하나 하나를 分離하고, 分離된 多數의 純粹培養菌이 果然 目的의 生産物을 大量으로 生成하는가를 個別的으로 試驗하여 가려내는 것이다. 사람의 "눈과 손"에 依存하는 作業이다.

檢索된 有用菌株을 工業的規模의 裝置에서 쓰이는 量의 單位까지 增殖시키는 過程은 前培養(preculture) 이라고 부르며 이것은 process unit 와는 獨立된 小規模 裝置에서 이루어진다.

process 에 따라 다르겠으나 glutamic acid 의 경우를 例로 들면 本工程의 醱酵槽의 醱酵條件은 培養條件과는 달리 반드시 菌體의 增殖에만 有利한 것은 아니고 오히려 菌體의 生長에 榮養分이 消耗되는 것은 生成物의 收率을 低下시키는 結果가 되므로 이것을 間接的으로 抑制하여야 하는 것이다.

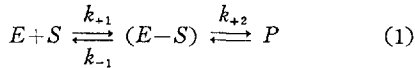
培養液이나 醱酵液의 營養組成, 溫度, 壓力, pH, 好氣性菌(aerobic microbe)의 경우의 空氣吹込速度 및 攪拌速度等은 窮極的으로는 經濟的인 最適條件下에 決定되어 調節되어야 한다.

酵素의 觸媒作用과 醱酵速度

酵素反應의 反應速度論의 研究는 醱酵의 反應速度를 解析하는데 必要한 것이다.

i) 基本的反應型式의 1 例

酵素反應의 反應速度式으로서 가장 代表的인 것은 Michaelis 와 Menten⁹⁾이 酵母에 依한 蔗糖의 加水分解反應의 解析結果 얻은 것으로서, 推定된 反應機構와 速度式은 各各 다음과 같다.



$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_{+2}[C] = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

단

[C]: 複合體(E-S)의 濃度

K_m ; k_{-1}/k_{+1} 即 複合體의 酵素와 基質의 分解反應의 化學平衡定數(濃度の 次元을 가짐)

(2)式에 依하면 다음과 같이 定數 K_m (Michaelis-Menten's constant)를 實驗의 으로 求할 수 있음을 알 수 있다.

$$\frac{1}{v} = \left(\frac{K_m}{k_{+2}[E_0]} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{k_{+2}[E_0]} \quad (2)'$$

即 基質濃度를 變化시킨 一連의 實驗結果로부터 反應速度 v 를 測定하고 $\frac{1}{v}$ 對 $\frac{1}{[S]}$ 의 點綴圖에서 그 直線性을 確認할 수 있으면 $-\frac{1}{K_m}$ 과 $\frac{1}{k_{+2}[E_0]}$ 을 同時에 數值的으로 알 수가 있다는 것이다.

$k_{+2}[E_0]$ 는 (1)式의 反應機構에 依한 경우 實驗의 으로 $[E_0] \approx [C]$ 일 때의 反應速度를 意味하며 이것은 酵素의 濃度에 比해서 基質의 濃度가 極히 커서 反應系內의 酵素는 거의 다 (E-S)複合體의 形態로 存在하는 경우의 極限의 反應速度(最大值)를 意味하는 것이다.

여기서 酵素分子의 特定한 部分 active site 에 結合하여 反應速度를 低下시키는 物質임이 밝혀진 阻害劑(inhibitor)가 系中에 存在할 경우 등의 反應速度論에 對해서는 割愛하기로 하고 酵素反應에 關한 (2)式이 單細胞微生物의 分裂生成, 成長과 死滅이 繼續되는 連續培養槽內의 巨視的 重量基準의 微生物增殖速度에 關한 Monod⁹⁾의 式과 類似한 것을 附記해 두기로 한다.

$$\frac{d[X]}{dt} = \mu_{\max} \left(\frac{[S]}{K_s + [S]} \right) [X] \quad (3)$$

단 [X]; 微生物의 濃度 $[g \cdot l^{-1}]$

(其他 記號說明畧)

ii) 酵素의 構造와 3次元活性中心⁹⁾

酵素作用이 一般의 化學觸媒作用에 比해서 極히 選擇性이 높은 것은 酵素構造의 特異性에 依存한다고 볼

수가 있다.

먼저 酵素의 化學的組成을 보면 1例로서 19種의 L-amino 酸殘基 242個가 서로 peptide 結合($-C \cdot NH-$)



로 連結된 分子量 25,000의 蛋白質로서(1次構造), 큰데 군데가 Cystine 結合($-CH_2-S-S-CH_2-$)으로 엉키고(2次構造), 部分的으로 나선(spiral)狀(α -Helix)으로 되어있고(3次構造) 그외에 反應中의 構造變化가 생긴다(4次構造).

또 酵素의 活性中心은 酵素分子의 一部分이겠으나 Polypeptide 鎖의 一部分은 아니고 오히려 酵素分子를 直鎖로 引張했을 경우에는 서로 떨어져 있는 數個의 peptide 部分이 活性을 띤 高次構造를 形成했을때 空間的으로 近接하여 形成한 3次元의인 것으로서 點이나 면이 아님이 밝혀져 있다. 흔히 酵素와 基質分子와의

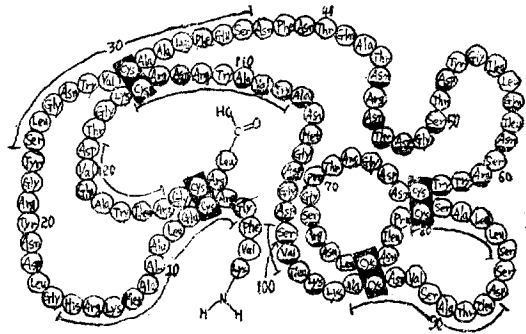


그림 3 Lysozyme의 Amino acid 配列

實線으로 表示한 部分은 α -Helix 構造이며 \odot 內의 Amino acid 殘基는 基質과의 結合部位(active site)를 形成하는 것을 表示하고 있다.

關係를 잠을쇠와 열쇠로 比喩하여 酵素의 基質特異性을 말할 程度로 選擇性이 顯著한 것이다. (그림 3 參照)⁹⁾

一方 生體內의 酵素의 生成에 關하여 그 生成이 細胞가 놓인 環境(培養液, 培地 등)의 支配를 안받는 構成酵素(constitutive enzyme)와 基質 등의 關連物質의 存在에 따라 急増하는 誘導酵素(induced enzyme)가 있다는 것과 其他, 酵素에 따라서는 細胞內에서는 酵素活性을 나타내지 않으나 前驅物質이라고 할 zymogen이 一旦 細胞밖에 放出되면 自觸的으로 혹은 他觸的으로 分解되어 活性을 띄게 된다.

Gaden⁷⁾에 依하면 醱酵速度에 關連된 細胞增殖, 基質消耗, 製品生成의 各 速度定數로서

$$\mu_{\text{growth}} = \frac{1}{[X]} \frac{d[X]}{dt} \quad (\text{hr}^{-1})$$

$$k_s = -\frac{1}{[X]} \frac{P[S]}{dt} \quad (\text{hr}^{-1})$$

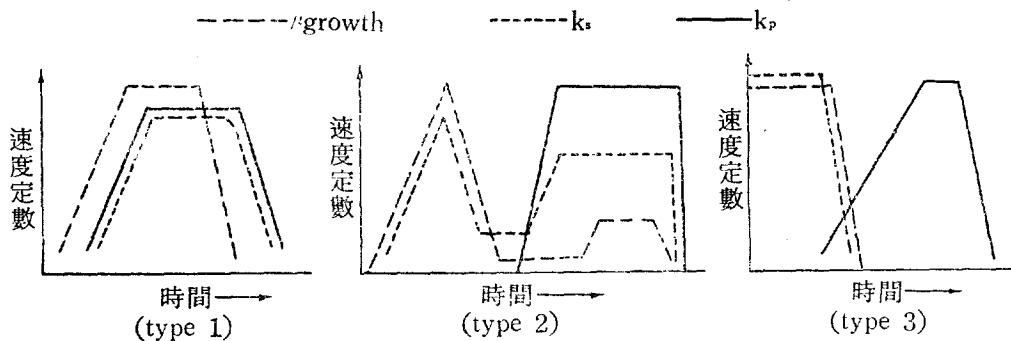


그림 4

$$k_p = \frac{1}{[X]} \frac{d[P]}{dt} \quad (\text{hr}^{-1})$$

을 취하고 3 者를 比較對比할때 그림 4²⁾와 같은 세가지 型으로 類別된다 하며 type 1의 例로서 ethanol 醱酵을 type 3의 例로서 Penicillin 醱酵을, type 2의 例로서는 glutamic acid 醱酵을 들을 수 있다 한다.

醱酵槽의 設計上 留意해야할 것의 하나이다.

生物化學工學教育의 教科內容⁸⁾

現在, 生物化學工學教育은 美國의 Wisconsin 大學, Pennsylvania 大學, 英國의 London 大學, Birmingham 大學의 大學院碩士課程에서, 日本의 大阪大學과 東京教育大學의 學部 및 碩士課程에서 行해지고 있다.

Wisconsin 大學은 가장 化學工學의 基礎에 重點을 두고 大阪大學은 生物化學 및 微生物學과 그 應用에 置重하고 있는 편이다 한다.

다음에 東京教育大學學부의 경우와 Pennsylvania 大學碩士課程의 경우를 轉載하기로 한다.

i) 學部教科內容例; 科目 및 學點數

(基礎 및 關係科目)

一般化學	4	數 學	12
無機化學	4	應用數學	4
有機化學	4	製 圖	2
分析化學	4	英 語	8
物理化學및演習	6	應用力學	4
一般物理및實驗	10	化工材料	2

(專門科目)

生物化學	4	反應工學및演習	4~6
工業微生物學	4	生物物理學및演習	3
生體制御機構	2	環境衛生工學	2
生化各論	4	化工裝置設計製圖	2
微生物工業各論	4	化工 plant 設計	4

培養工學	4	計裝工學	4
共通實驗	10~14	化工實驗	2~7
化學工學基礎	0~3	電氣工學	4
生物工業化學	4	機械工學	4
生物工程論	2	實驗計劃法	0~2
單位操作및演習	6~10	特別研究및卒業研究	6
化工熱力學·反應速度論演習	6	以上	

ii) 碩士課程教科內容例; 講義 및 實驗時間數

一般微生物學特論 및 實驗	2+6
微生物細胞學 I	3
同 II	3
生細胞의 化學	3
生體內化學反應論(微生物代謝)	8+6
生物物理化學	3
化工數學 I	3
同 II	3
移動速度論 I	3
" II	3
反應速度論	3
平衡操作論	3
process 制禦	3
生物化學工學	3
以上	

生物化學工學發展에의 期待

微生物利用工業의 發展에 化學工學의 立場에서 貢獻하는 데는 첫째로는 微生物自體에 對해서 깊은 知識을 가져야 할 것은 勿論이거니와 化學工學技術者로서는 微生物에 關해서 蓄積된 資料를 整理하여 예컨대 微生物系의 反應 model의 設定, 定式化, 確率統計論의 解析 및 計算機를 利用한 析解等 微生物에 關한 未知因子的 工學的 解析에 依한 解明도 期待되고 있는 것이

며, 醱酵工業의 無菌操作에 關連한 殺菌法과 裝置의 設計等 많은 課題가 있을 뿐더러 微生物에 依하여 生産되는 複雜한 構造를 가진 物質의 回收, 濃縮에 關連한 새로운 裝置의 開發, 操作法의 改良等 生物化學工學에 期待되는 課題가 많이 있다.

또한 最近 醱酵의 炭素源으로서 廉價한 石油을 利用하기 爲한 石油炭化水素資化菌의 檢索이 各國마다 活發하나, 發見된 資化菌을 使用한 工業的規模의 plant의 設計는 從來의 경우와 樣相이 다를 것이므로 거기 또한 生物化學工學의 活用이 期待되는 것이다.

20年來, 一連의 抗生物質의 製造를 비롯한 醱酵技術에 接近하여 많은 成果를 거둬온 化學工學의 手法의 具體例들은 다음 著書에 體系的으로 說明되어 있다.

Aiba, Humphrey and Millis:

Biochemical Engineering

(University of Tokyo Press, 1964)

千先 궁금증을 풀기 爲해 第5章부터 第4章의 目次를 간추려 놓기로 한다.

i) 連續醱酵(1段 및 多段)

定常連續醱酵理論, 非定常連續醱酵理論, 回分醱酵와 連續醱酵의 比較, 連續醱酵의 例, 連續操作上的 問題點, 設計計算의 1例.

ii) 通氣와 攪拌

物質移動의 理論, 氣泡通氣와 機械的 攪拌物質移動速度係數와 操作變數와의 相關, 物質移動速度數에 影響을 미치는 其他因子, 計算의 1例.

iii) Scale-up

液體單位體積當의 攪拌動力, 體積基準의 酸素移動速度定數, 混合時間의 概念, 非 Newtonian-流體概說, Scale-Up에 關한 設計計算例.

iv) 培地の 殺菌

微生物의 熱殺菌, 殺菌裝置設計에 있어서의 微生物死滅速度 및 (雜菌)汚染度의 考慮, 回分式培地殺菌操作, 連續式培地殺菌裝置의 設計

v) 空氣殺菌

空氣中雜菌의 種類와 數, 實用的空氣殺菌法, 纖維狀物質의 充填層에 依한 空氣(濾過)殺菌, 空氣濾過殺菌裝置의 새로운 形式

vi) 運轉, 計測 및 制禦

無菌操作, PH 調節, 溶解酸素測定法發泡阻止, 攪拌

動力測定과 物質移動의 容量係數($k_L A/V$), 醱酵의 Rheology의 制禦, 物質移動의 容量係數의 計算例

vii) 生産物回數를 爲한 機械的 分離와 細胞의 破碎, 機械的 分離의 原理, 液中에 浮遊하는 細胞의 密度와 尺寸, 醱酵工業에 있어서의 機械的 分離의 應用, 細胞의 機械的 破碎, 遠心分離機의 計算例. 以上

結 語

不遠 우리나라에 있어서도 生物化學工學에 關한 研究가 많이 이루어질 것이 期待된다.

各節마다 具體性이 없는 記述이 되고 말았으나 前半에서는 微生物利用工業 주변에서 쓰이는 術語의 解説을 後半에 있어서는 化學工學者가 微生物工學(醱酵其他)에 接近하려할 때의 路 案内를 指圖했던 것이라고 해도 過言이 아니다. 끝으로 專門家諸氏의 叱咤를 바라는 바이다.

References

- 1) Hastings, J. J. H.; "Problems of biochemical engineering." Trans. Inst. Chem. Engrs 32 11 (1954)
- 2) Gaden E. L. Jr.; "Microbiological process discussion; Bioengineering and fermentation." Appl. Microbiol. 8 123(1960)
- 3) Aiba, S. et al; "Biochemical Engineering" p24 University of Tokyo Press (1964)
- 4) Michaelis, L. and M. L. Meuten; Biochem. Z. 49. 333(1913)
- 5) Monod, J. "The growth of bacterial cultures" Ann. Review of Microbiol. 3 371 (1949)
- 6) 西澤一後·志村憲助著; "入門酵素化學" 第3章 南江堂(日本) (1967)
- 7) Gaden, E. L. Jr.; "Fermentation process kinetics." J. Biochem. Microbiol. Tech. & Eng. 1 413(1959)
- 8) 菅沼 化學工學, 30 863 (1966)
(同誌 30 No 10, (1966)은 "生物化學工學"의 特集號임.)
- 9) 山口和夫·山口辰良著; "最新應用微生物學入門" p 136, p 149, p 122 技術堂(日本) (1965)