

유전공학과 발효제품의 개발공정

목 차

1. 서 론

- (1) 생물공학의 정의 1
- (2) 생물공학의 기술 3
 - (2-a) 재조합 DNA 기술 (Recombinant DNA) 3
 - (2-b) 단일 클론 항체기술(Monoclonal Antibody) 8
 - (2-c) 생물공정 기술 11
- (3) 생물공학의 산업적 이용 17
 - (3-a) 의 약 품 17
 - (3-b) 가 축 약 품 18
 - (3-c) Specialty Chemicals 18
 - (3-d) 식품과 알코올 음료 18

2. 발 효 19

- (1) 멸 균 (Sterilization) 19
- (2) 교 반 21
- (3) 산소전달 21
 - (3-a) Vessel design 22
 - (3-b) Power input 22
 - (3-d) 교반기 설계 22
 - (3-d) 발효조내의 압력 23
 - (3-e) 배지의 물성 (Medium properties) 23
 - (3-f) Antifoam 23
- (4) 열 전 달 23
- (5) 제어와 계장 24
 - (5-a) 측정변수 24
 - (5-b) 제어변수 25

3. 분리공정(Downstream Processing)	26
(1) 미생물 분쇄	27
(1-a) Homogenization	27
(1-b) Bead milling	28
(2) 원심분리	29
(3) 여 과	31
(3-a) Filter press	31
(3-b) Rotary drum filter	32
(3-c) Membrane filtration	33
(4) 단백질 침전	35
(4-a) Salting out	35
(4-b) 유기용매에 의한 침전	37
(4-c) 등전점 침전(Isoelectric precipitation)	37
(4-d) 비이온성 고분자에 의한 침전	38
(4-e) Polyelectrolyte 에 의한 침전	38
(5) 크로마토 그래피	38
(5-a) Ion exchange chromatography	39
(5-b) Affinity chromatography	40
(5-c) Gel filtration chromatography	41
(5-d) High-performance liquid chromatography	42
4. Scale-up 기술	43
(1) 발 효	43
(1-a) 서 론	43
(1-b) 교 반	45
(1-c) 산소전달	46
(1-d) 결 론	47

(2) Downstream Processing	48
(2-a) 서 론	48
(2-b) 원심분리	48
(2-c) Membrane filtration	50
(2-d) 크로마토 그래피	51
(2-e) 결 론	59

유전공학 및 발효제품의 개발

1. 서 론

지난 10년 동안 유전자를 조작하는 기술의 혁신은 생명체의 공업적 이용에 대한 관심을 불러 일으켰다. 1973년에 타 생물의 유전자를 미생물에 집어 넣는데 성공하고 나서 미국과 기타 선진국의 과학자들은 유전자 조작기술이 산업계의 여러 분야에서 큰 역할을 하게 될것이라고 기대하게 되었다. 1980년대 후반기에 들어선 시점에서, 의약품으로 humulin(유전공학에 의한 인공 insulin) protropin(유전공학에 의한 인공 사람 성장 hormone) 이 미국 FDA 의 공인을 받게 됨으로써 유전공학의 산업화가 본격화 되고 있다는 분위기를 느끼게 되었다. 유전공학(Genetic Engineering)기술을 미생물에 적용하여 산업화 하는 과정에서 생물공학(Biotechnology) 이라는 보다 광범위한 개념이 대두되고 있으며, 20세기 최후의 기술이라는 생물공학이라는 연계학(Interdisciplinary Study) 의 개념 정의가 필요하게 된다.

(1) 생물공학의 정의

생물공학은 유용한 생산품을 만들기 위해 식물및 동물을 개량하고, 미생물을 특별한 목적을 위해 유전자 조작하는등, 생명체의 일부 또는 전부를 이용하는 과학과 기술을 포함한다. 생물학적 공정과 생명체는 오래전부터 인류에 의해 이용되어 왔으며 농사, 교배, 제빵 그리고 술제조등에서 의도적으로 생명체를 선택하여 사용해 왔다. 또 유전학의 발전에 따라 항생물질및 생화학물질에서 돌연변이 기술도 이용하였다. 생물공학의 기술에서 핵심이 되는 분야로 재조합 DNA, 세포융합 (Cell hybridization) 그리고 새로운 생물공정(New Bioprocessing Techniques) 을 꼽을수 있겠다. 재조합 DNA 와 세포융합 기술은 과학의 발전에 따라 이제는 보편화된 기술로 되었으며 생물공정기술은 생물공학의 산업화 과정에서 발효와 Downstream processing 기술로 연구되고 있다. 생물공학의 Boom 은 2차 대전 이전, 미국에서 석유화학공업이 발전하기 전에 한차례 있었으며 1970년대 이후 Cohn 과 Boyer 의 유전자 조작기술이 대중화 되면서 다시 나타난것이라 생각할수 있다

1857년에 파스퇴르가 발효현상이 미생물의 작용이란것을 밝힌후 20세기 초에 발효산업이 융성하기 시작하였다. 1925년 당시 미국의 용제생산중 85% 가 발효기술에 의한 것이었다. 또 2차대전중 Penicillin 의 공업적 생산은 많은 인명을 구했으며 아직도 항생제 생산은 발효에 많이 의존하고 있다. 용제산업의 퇴보는 값싼 석유제품의 등장에 의해 초래되며 미국에서 1950년에 발효에 의한 용제생산은 1% 로 줄어들게 되었다. 1953년에 Watson 과 Crick 의 DNA 구조 해명이후 생명과학의 발전에 의해 1966년까지 유전자합성 까지 이르게 되었다. 1973년에 plasmid DNA 를 이용해 복합유전자가 만들어져 대장균에 집어 넣을수 있게 되었다. 이를 계기로 유전자는 조작될수 있게 되었고, 생물공학 시대의 첫발이 디더진 것이다. 세포융합기술이라는 다른 하나의 핵심기술이 개발됨으로써 진단시약에 사용되는 단일 클론항체(Monoclonal antibody) 의 대량 생산이 가능하게 되었다.

Table 1 에 생물공학의 산업화에서 주춧돌이 되는 사건을 요약하여 보았다.

Table. 1 생물공학의 산업화 과정에서 주요사항

1973	. 최초의 유전자 클로닝
1974	. 최초의 클론된 유전자 발현 . 재조합 DNA 실험에 대한 공청회(Gordon 회의)
1975	. 최초의 융합세포(hybridoma) 제조
1976	. 재조합 DNA 연구 전문 venture capital 회사 설립(Genentech)
1980	. 미국 대법원에서 미생물 특허성 가함을 선고 . Cohen/Boyer 특허(재조합 DNA 기술) 확정 . 영국과 서독의 보고서(Spinks' report(영), Leistungs plan(독) 발간)
1981	. 단일클론 항체이용 진단시약 허가 획득(미) . 최초의 자동 유전자 합성기 판매 . 일본, 프랑스 국가 발전목표로 생물공학 채택 (The year of biotechnology(일), Pelissdo report(프)) . 80개 이상의 유전공학 Venture capital 회사 설립
1982	. 재조합 DNA insulin 허가

(2) 생물공학 기술

생물공학에서 쓰이는 기술들은 생물체의 내부 조절작용을 인간이 임의로 조절할 수 있는 점에서 새롭다고 할 수 있다. 재조합 DNA 기술은 동물, 식물, 미생물의 유전자를 직접 조작해서 희귀물질을 대량 생산할 수 있다든지, 독성물질을 분해할 수 있다든지, 새로운 종을 만드는 작업등 광범위한 분야를 포괄하고 있다. 세포융합은 다른 성질을 갖는 세포들을 하나의 세포로 인위적으로 만드는 것이다. 이 기술은 암세포의 잘 자라는 성질과 유용한 항체를 만드는 분화세포의 성질을 결합시킬 수 있다. 하이브리도마(hybridoma) 라고 불리는 융합에서 생긴 세포는 단일 클론항체를 생산하고 이 항체는 진단시약과 단백질분리등에 사용된다. 재조합 DNA와 세포융합기술의 산업적 성공은 생물공정 기술의 발전에 달려 있을 것이다. 현재 생화학물질 생산은 회분조작으로 이루어지고 많은 양의 세포대사물 배양액 (medium) 폐기물중에서 소량의 생산물을 회수하고 있다. 근래의 세포(cell) 및 효소의 고정화 기술의 발달로 생산성을 높이고 생산물의 회수를 용이하게 한 것은 생물공정기술의 한가지 개발 예라고 하겠다. 또한 고효율의 생물반응기, 감지기(sensor), 회수 및 분리장치의 설계도 중요한 분야의 하나이다. 앞으로 생물공학의 산업화의 경쟁력은 유전학, 미생물학, 면역학등 기초과학의 혁신 뿐만 아니라 생물공정기술의 발전에 크게 좌우 되리라는 전망이다.

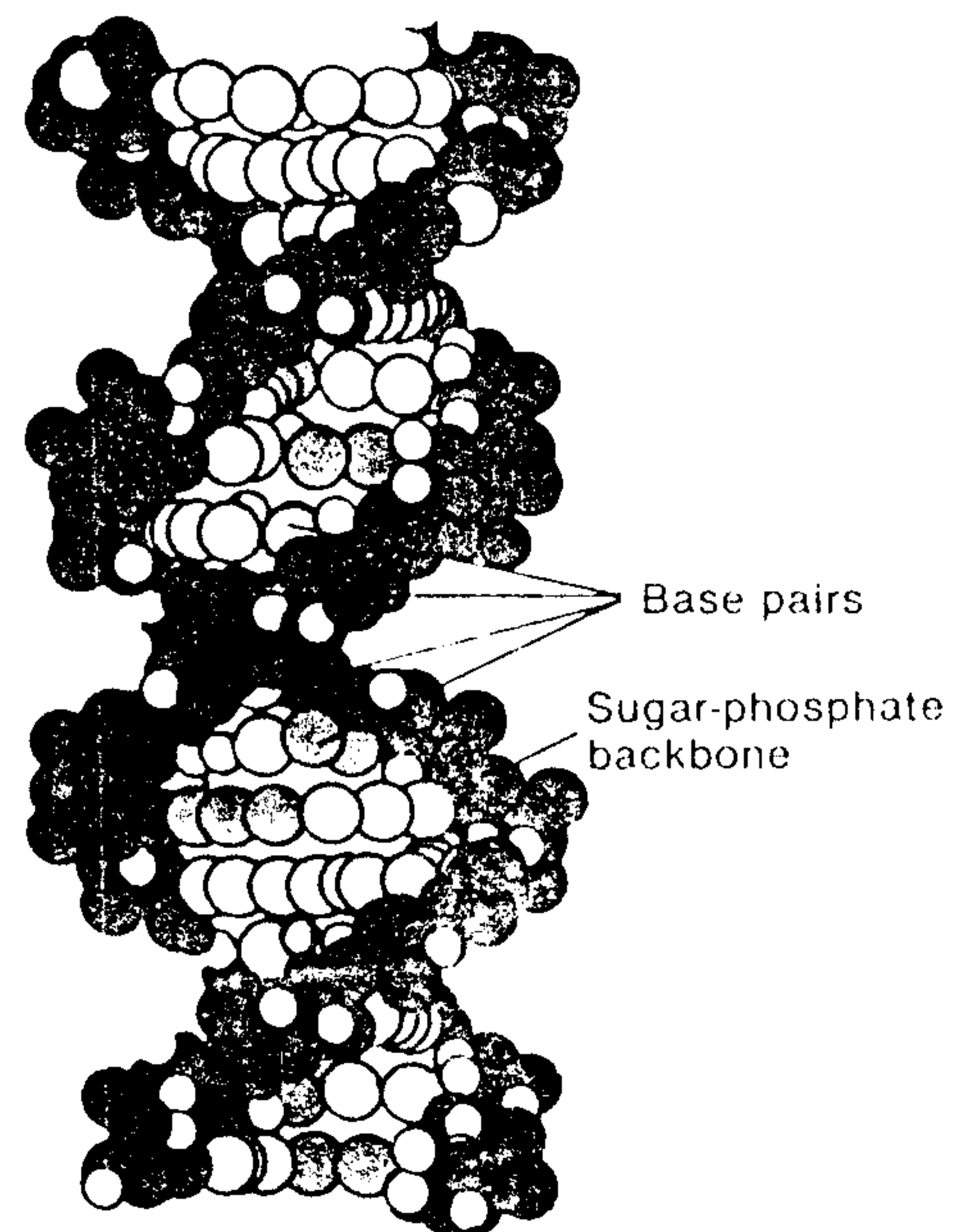
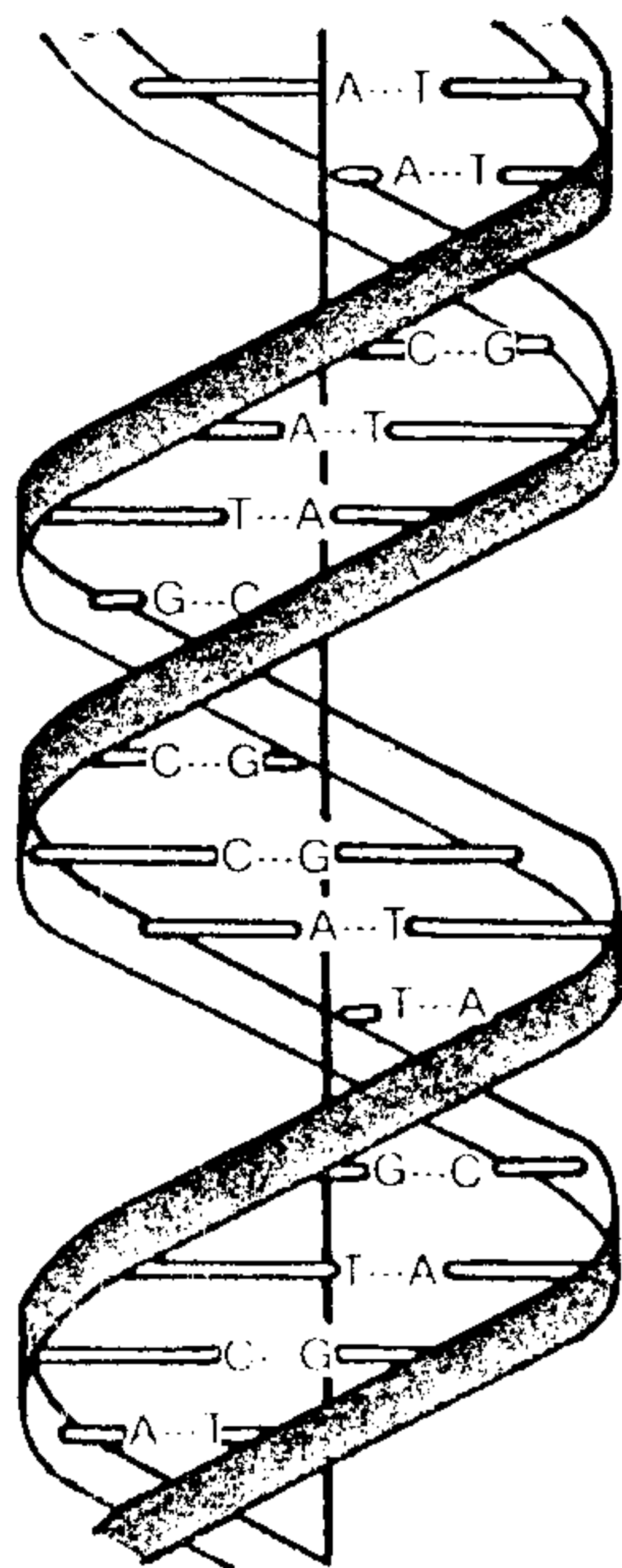
(2-a) 재조합 DNA 기술

서로 다른 생명체들로 부터 분리한 유전자를 결합하는 재조합 DNA 기술은 분자의 수준에서 생명을 이해하는데 커다란 발전을 가져 왔다. 이 기술은 의약품에서 일반화학제품에 이르기까지 여러가지 화합물을 생산하기 위한 산업화의 기초가 되어 왔다. 재조합 DNA 기술의 과학적 기초를 소개하고 그 산업적 이용가치를 정리하면 다음과 같다.

(i) DNA 구조와 기능

생명현상에서 한 개체의 특징은 DNA 에 들어 있는 정보에 따라 유지되고 다음세대에 전수되어진다. Fig. 1 에서 보듯이 2중 나선 구조를 한 DNA 는 4가지 뉴클레오타이드, 즉 아데닌(Adenine), 씨토닌(Cytosine) 구아닌(Guanine), 티민(Thymine) 으로 구성되어 있다. 하나의 유전자는 이러한 뉴클레오타이드의 일정한 배열에 의하여 이루어져 있고 각 유전자는 특정 단백질 구조에 대한 정보를 내포하고 있으며 또 단백질 생성에 필요한 신호에 관한 정보를 내포하고 있다. DNA 가 복제(replication) 되는 기작은 DNA 자체의 구조상 고유하다. Fig. 1 에서와 같이 뉴클레오타이드의 염기들은 서로 결합하여 꼬여진 사다리 모양의 DNA 를 이룬다. 이 결합은 특이하여 A 는 항상 T 와 C 는 항상 G 와 결합하게 된다.

Fig. 1. DNA 의 구조



세포의 분화과정에서 DNA 는 지퍼가 열리듯 열려서 각 줄기에 결합이 풀어진 염기를 생기게*하고 각 줄기가 새로운 상보 DNA 를 만드는 template 로서 이용되게 된다. 이로서 두가닥의 새로운 DNA 줄기가 만들어지고 원래의 DNA 와 정확히 같게 된다. Fig. 2 에서 DNA 의 복제를 설명하고 있다.

Fig. 3 에서는 세포에서 유전정보가 해독되고, 생성물인 단백질이 만들어지는 기작인 유전자의 발현을 설명하고 있다. 첫단계는 trans cription 이라고 하는 과정인데, 즉 DNA 상의 발현된 부분의 유전자가 있는곳이 벌어지고 중간매체인 mRNA 가 합성되어 진다. 이 mRNA 는 한줄기로 되어 있고 DNA 와 화학적으로 대단히 유사한 뉴클레오타이드 서열을 하고 있다. trans cription 의 과정은 DNA 복제와 유사한 방법으로 벌려진 DNA 와 서로 일치하는 mRNA 의 합성을 말한다.

Fig. 2. DNA 의 자기복제

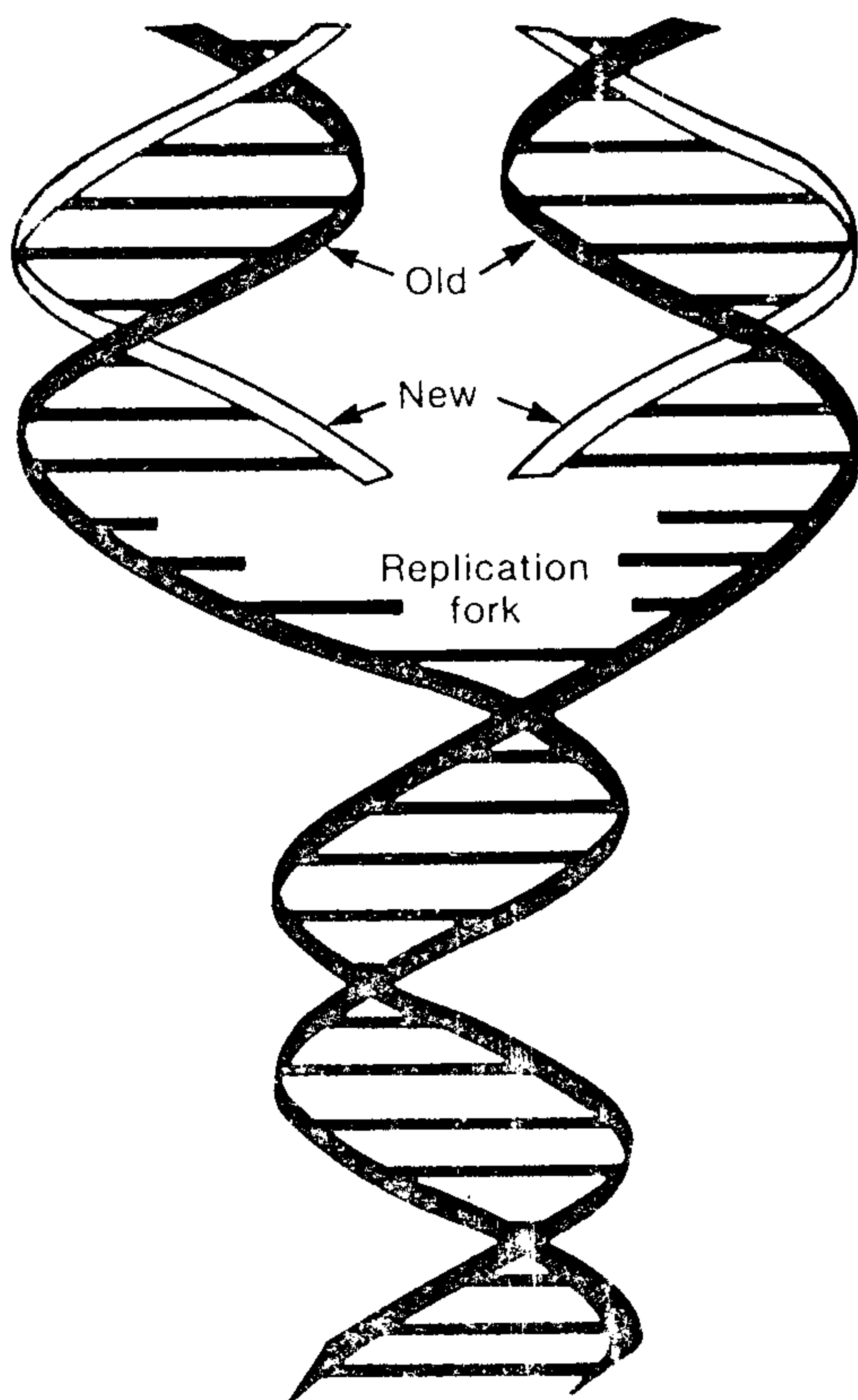
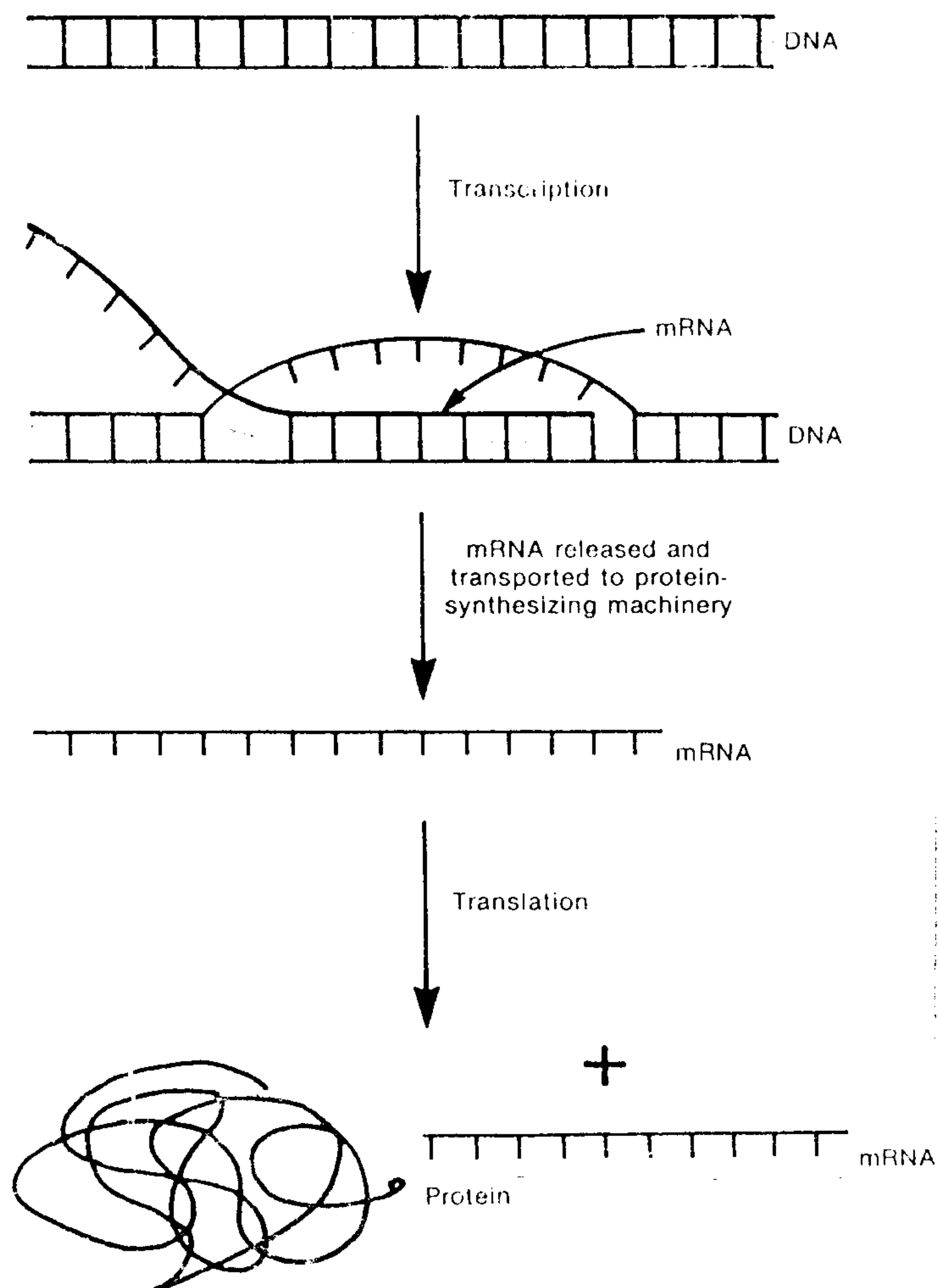


Fig. 3. 유전자 발현의 기작



Translation 이라 불리는 두번째 단계에서는 mRNA 가 세포의 단백질 합성 기구와 결합하여 mRNA 상의 뉴클레오타이드 서열에 맞게 아미노산으로 되어 있는 단백질을 만드는 과정이다.

단백질은 세포에 필요한 대부분의 기능을 수행한다. 단백질중 가장 다양한 것은 효소로서 생화학반응의 촉매로 작용한다. 둘째로는 구조 단백질로 예를 들면 세포막을 구성하는 단백질이다. 또 다른 단백질로는 조절기능을 갖는 호르몬등이 있다.

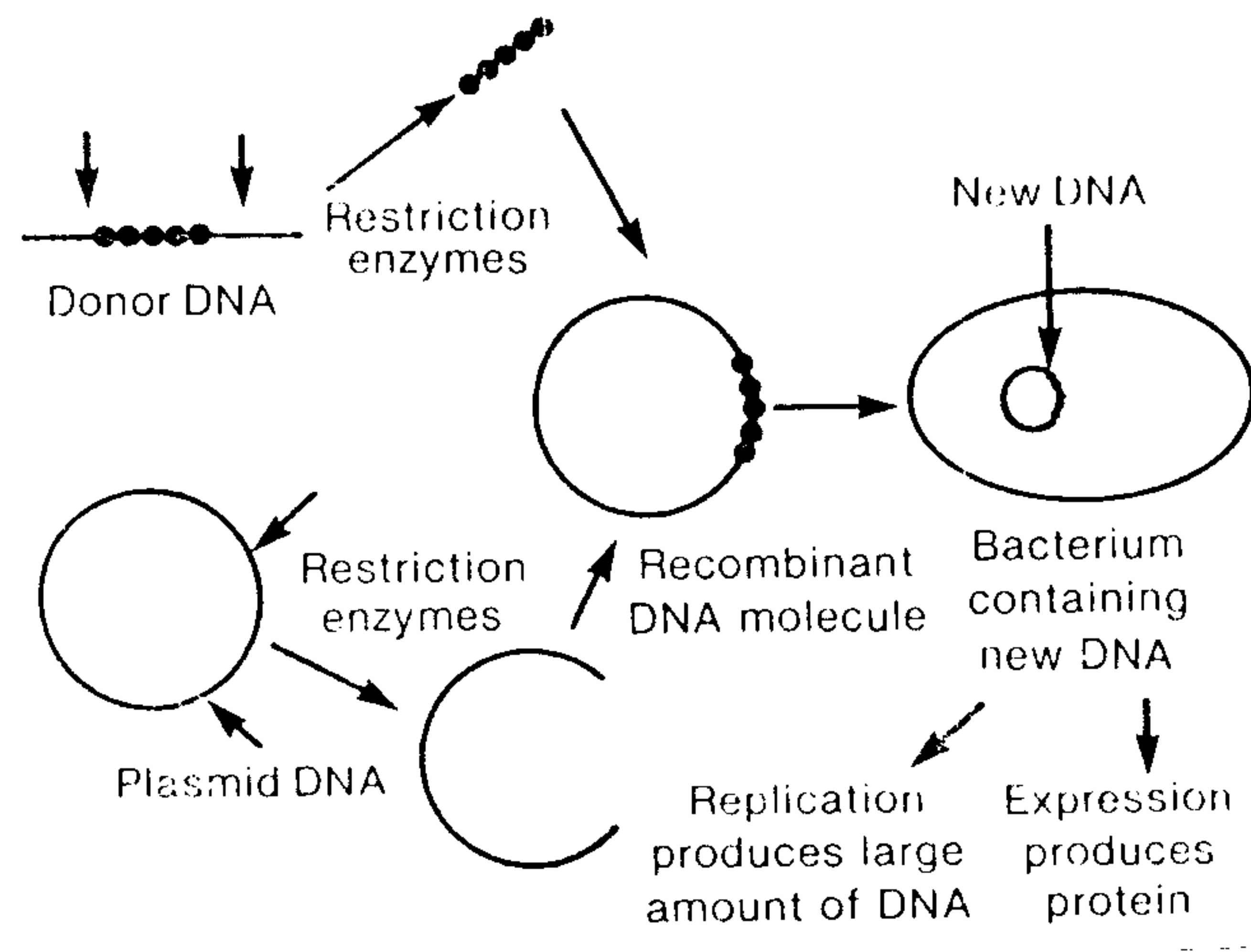
유전정보가 단백질로 translation 되도록 하는 유전암호는 생물계에서 보편성이 있다. 이것이 DNA 의 산업적 이용의 기반이 되는것이다. 즉 한 개체로 부터 얻은 DNA 를 다른개체에서 유전암호를 이용해서 발현시키는 것이다. 유전자의 시작과 끝을 지시하는 조절신호를 다른개체에서 조작하는 것이 재조합 DNA 기술중 가장 중요한 분야의 하나이다.

(ii) 재조합 DNA 의 제조

재조합 DNA 를 만드는 기본적인 기술은 Fig. 4 에 있다.

제한 효소(restriction enzyme) 는 DNA 를 자르는데 사용되며, 잘려진 DNA 조각중에서 원하는 유전자를 가려 donor DNA 를 삼는다. 이렇게 얻어진 DNA는 vector 라고 불리는 DNA 에 끼워넣는다.

Fig. 4. 재조합 DNA 제조방법



벡터로는 보통 plasmid 가 많이 이용되며 각 plasmid vector 는 donor DNA 조각들을 가지게 된다. 이렇게 재조합된 plasmid DNA 는 형질전환이라는 과정을 통하여 숙주세포에 들어간다. 일단 숙주세포내에 들어간 재조합 plasmid 는 여러차례의 복제를 통하여 많은 donor DNA 를 만들게 된다. 그리고 donor DNA 를 갖고 있는 세균중에서 원하는 DNA 조각을 갖고 있는 세균을 골라내기 위해 적절한 probe 를 사용하게된다. plasmid 이외에 벡터로 사용될수 있는것들이 있는데 바이러스 DNA 또는 cosmid 들이 있다. cosmid 는 플라스미드와 바이러스를 결합하여 인위적으로 만든것이다.

재조합 DNA 방법에서 고려해야할 사항은 다음과 같다.

- 1 적절한 벡터 : 이것은 숙주세포(host cell) 에 들어가서 자기복제할수 있으며 이러한 과정에서 donor DNA 부분도 틀림없이 복제하여야한다.
- 2 적절한 선별법 : 많은 세포들 중에서 재조합 DNA 를 받아 들인 것과 그외의 것을 구별할수 있는 선별법이 있어야 한다.
- 3 적절한 probe : 원하는 특정한 DNA 를 내포하고 있는 세포를 찾아낼수 있는 적절한 probe 가 필요하다.

클로닝과정에서 가장 어려운 부분은 적절한 probe 를 분리하는 것이다. 세포내에서 mRNA 를 쉽게 얻을수 있다면 mRNA 를 probe 로 사용할수 있다. (reverse transcriptase 를 이용 mRNA → DNA) 이 방법은 극히 제한적이며, 최근에는 DNA 자동합성기가 많이 사용되고 있다.

단백질의 아미노산 배열을 알고 있다면 이로부터 DNA 의 염기 서열을 추측하고 이들을 DNA 자동합성기로 합성하여 probe 로 사용하는 방법이다. 현재 재조합 DNA 기술은 세균이나 효모같은 단순한 미생물에서 이용되고 있는데 효모는 고등동물의 세포와 유사하다는 점 때문에 많이 이용되고 있다. 효모는 고등 유핵세포와 유사한 기능 갖는 단백질에 당을 첨부시키는 기능을 갖고 있다.

(iii) 재조합 DNA 기술과 산업화

생물학적 제품의 생산과 생물공정을 개선하기 위해서는 클론된 유전자가 반드시 발현되어 목적하는 제품이 나와야 한다. 시장성을 가진 제품자체의 생산이나 독성물질을 분해하는 능력을 세포가 갖기 위해서는 목적하는 단백질이 만들어져야 하는것이다.

생물공정에서 하나의 단백질이 세포로부터 배양액속으로 분비된다면 그 단백질을 정제하기 위해 많은 세포 구성물질들을 제거하는 번거로움을 피할수 있다.

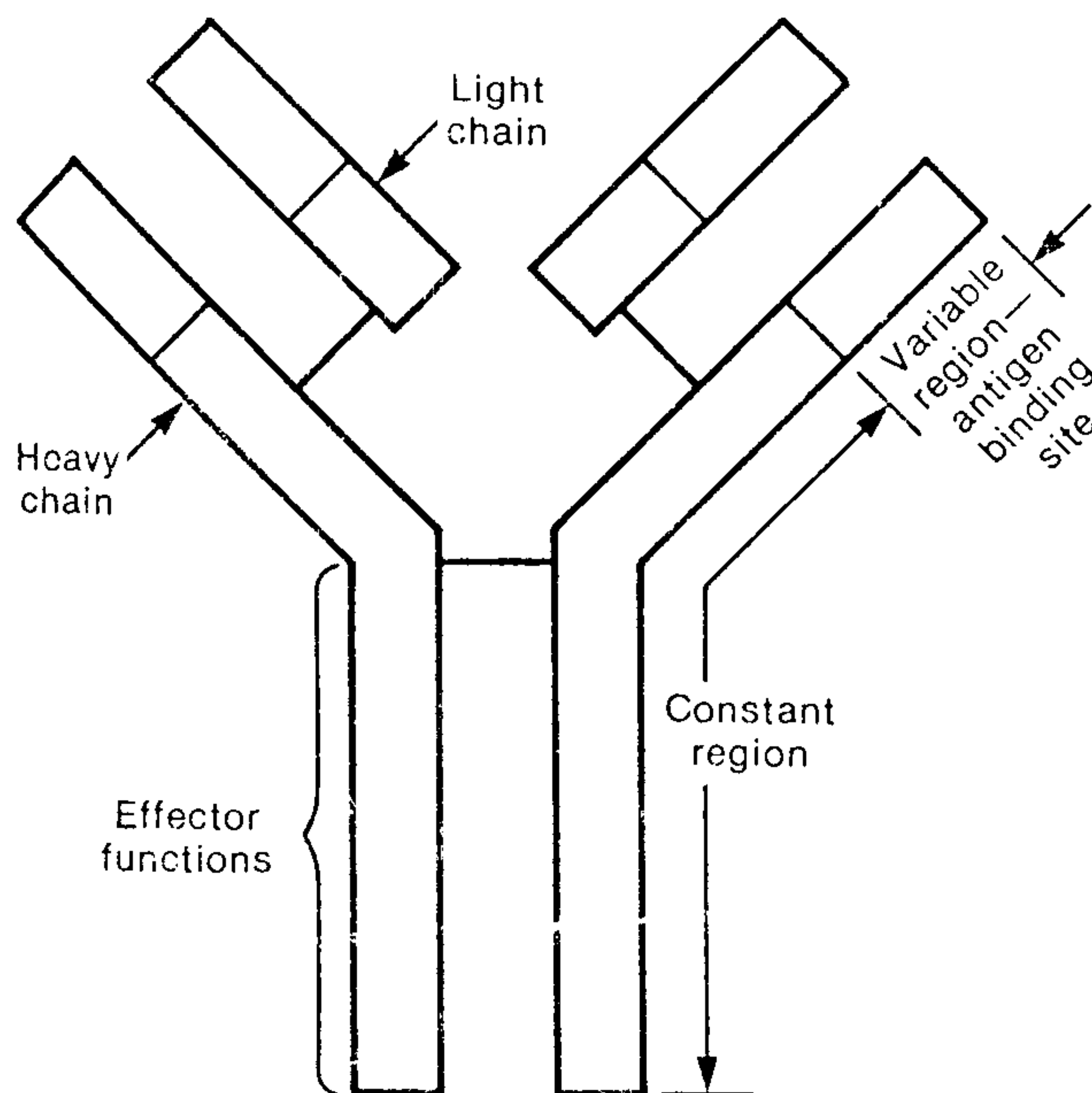
세포가 단백질을 분비하도록 조절할수 있는 DNA 를 벡터 DNA 에 붙이도록 하는 것은 가능하며 그렇게 함으로써 정제를 용이하게 할수 있다.

유전자의 발현을 높이는 것과 단백질을 분비하게 하는 기술의 발전은 재조합 DNA 기술의 산업적 이용을 쉽게 한다.

(2-b) 단일 클론 항체기술

고등 동물에 있어 항체의 생성은 면역반응이라 일컫는 일련의 생체반응과 관계가 있다. 생체내 B 임파구는 체내에 들어온 이물질을 인식하고 이물질(항원)에 특이하게 결합하는 항체를 생성하게 된다. 항체는 항원과 결합하고 항체 특유의 구조에 따른 작용을 하게된다. 모든 항체는 (Fig. 5) 는 4개의 단백질로 구성되어 있다. 항체 단백질의 아미노산 배열은 위치에 따라 분화되어 있다.

Fig. 5. 항체 분자의 구조



면역반응은 생체의 자기 방어라는 기능을 떠나서, 특별한 물질이나 세포를 검정하는데 있어 혹은 혼합물로 부터 특별한 물질을 분리하는데 이용되어 왔다. 항체-항원반응의 특이성, 높은 감도는 진단목적에 많이 이용되어 왔었고, 종래의 항체제조는 실험동물에 항원을 주사하고 면역반응이 일어난후 혈청을 얻는 것이었다.

종래의 항체 생산은 문제점이 다음과 같이 있었다.

- . 항원의 순도 : 보통 주사되는 항원에 소량이라도 이물질이 오염되어 있으면 이들에 대한 항체들까지 생성되어 항혈청(antiserum) 속에 섞이게 된다.
- . 항혈청의 제조에 여러동물이 이용되었을때 항원에 대한 활성이나 결합력등에서 여러가지 다른 항체들이 생기게 된다.
- . 또 어떤 목적을 위해서나 좋은 항혈청을 제공하기 어려운 제한성이 있다.

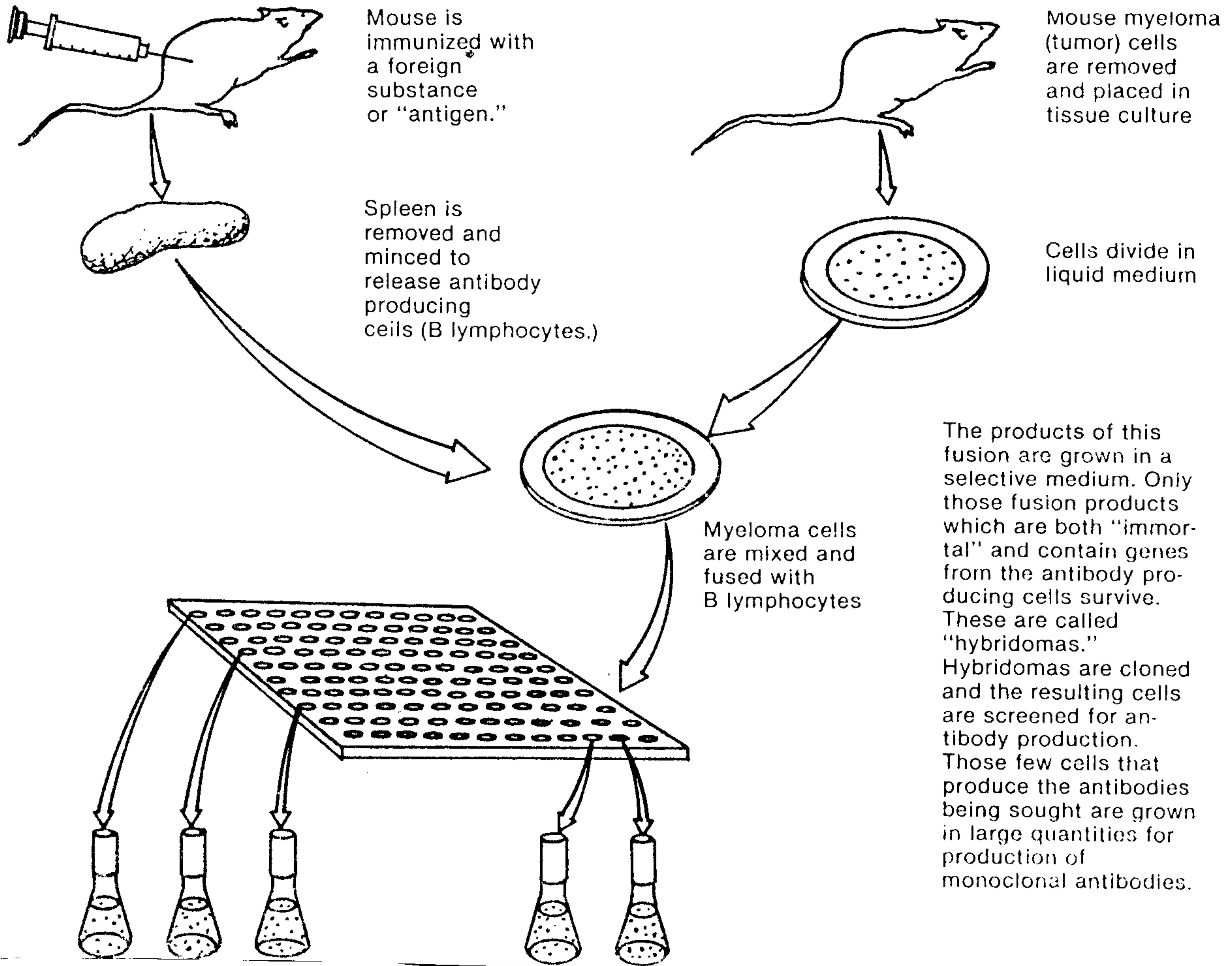
이상의 문제점 때문에 표준 항혈청을 다량으로 만들어 Immunoassay 를 표준화하는데 어려움이 있다. 따라서 순수한 항체를 대량으로 계속적으로 생산하는 새로운 방법은 계속 연구되어 왔다.

Milstein 과 Köhler 박사는 양의 적혈구를 주사하여 면역시킨 생쥐의 B 임파구와 종양세포인 myeloma 세포를 융합시켰다. 이렇게 얻은 잡종세포는 양의 적혈구와 면역반응을 나타내는 단일 클론 항체를 다량생산하는것을 발견하였다. Myeloma 세포는 세포배양으로 영구히 생존할수 있는 능력을 갖고 있고, B 임파구는 양의 적혈구 항원에 대한 항체 생산 능력을 갖고 있는데 이 두 성질을 복합한 잡종 hybridoma 세포가 탄생한것이다.

(i) 단일 클론 항체의 생산

Fig. 6 에 단일 클론 항체를 생산하는데 사용된 방법이 설명되어 있다. 정제된 항원을 생쥐에 주사하고 몇 주후에 생쥐의 비장을 떼어내어 B 임파구를 분리한후 myeloma 세포와 융합시킨다. 얻어진 세포들은 잡종 세포만 자랄수 있는 배양액에서 배양한다. 이렇게 하여 많은 잡종세포가 얻어지고 이들 각각을 조사하여 원하는 항체를 생성하는 클론을 찾게된다. 선별된 잡종세포는 세포배양을 통하거나 생쥐의 복강에 주사하여 그곳에서 자라게 하여 쉽게 항체를 생산할수 있게된다.

Fig. 6. 단일 클론 항체의 제조방법



이 방법은 어떤 종류의 항원에 대하여서나 아주 고유한 단일클론 항체를 다량으로 제조할수 있는 길을 열어 놓았다. 단일 클론 항체기술에 의해서 생성된 항체는 순수하며, 재래적 방법에 의해서 생성된 항체에 비하여 재현성이 크다.

(ii) 단일 클론 항체의 대량생산

단일 클론항체의 수요가 늘어남에 따라 대량 세포배양의 필요성이 대두되기 시작했다. 또 단일 클론 항체가 단백질 정제용 Affinity Chromatography 에 공업적으로 사용된다면 항체생산의 대규모화는 더욱 필요하게된다. 대량 세포배양기술은 미생물의 발효와 또 다른 특수한 배양기술이다. 잡종세포의 특성은 미생물보다 예민하여 특수배양액과 배양장치가 필요하게 된다. 이는 세포배양기술에서 발효기술과 더불어 중요한 자리를 차지하게 된다.

(iii) 단일 클론 항체의 산업적 이용

단일클론 항체는 순도, 기질특이성, 그리고 결합력에서 우수하기 때문에 단백질 정제에 효과적으로 사용될 수 있다. 고정된 단일 클론항체를 column 에 충전시키고 분리하고자 하는 물질이 들어있는 시료를 통과시키면 단일클론항체와 결합하는 분자를 제외하고는 column 을 통하여 빠져나가게 된다. 그후 단일클론 항체와 결합된 분자를 떼내어 column 밖으로 용출하게 된다.

단일클론 항체는 종래의 항체를 대체하여 진단용 시약에 많이 사용되고 있다. 항체-항원 반응의 특이성을 이용해 암, 병원균, 생체내 물질의 진단에 이용하며 유전공학의 기술을 이용해 가장 빨리 상품화된 예가 된다.

(2-c) 생물공정 기술

생물공정은 원하는 물리적, 화학적 변화를 위하여 세포자체나 그것의 구성물질(예 ; 효소, 엽록체등)을 이용하는 것이다. 인류의 문명이 시작된 이래로 생물공정은 알코올 음료와 발효식품을 생산하는데 이용되어 왔다. 20세기 들어 1차 대전중 아세톤과 부탄올의 생산과 구연산의 생산에 힘입어 생물공정산업이 미국에 도입되었다. 1940년대의 항생물질의 발효의 도입과 석유화학공업의 발전에 따라 생물공정산업에 변화가 일어났다. 저부가가치의 용제(아세톤, 부탄올)로 부터 고부가가치의 생산물(항생물질, 비타민, 효소)로 생산구조에 변화가 일어났다.

재조합 DNA 와 단일클론 항체 기술의 도입에 따라 생물공정기술에 새로운 변화가 일어나고 있다. 유전공학적기술과 생물공정 기술의 상호 연관성은 두 관점에서 살펴볼 수 있다.

- 유전적 변이가 일어난 생물체에 일어나는 공학적 문제들,
 - 생물공정의 생산성을 높이기 위해 유전적 변이를 일으킨 세포의 배양방법
- 전자의 문제는 세포자체에 있는 plasmid 가 잘 발현될 수 있도록 배양환경을 조정하는 것이고, 후자는 bioreactor 의 design 이 유전자 조작된 세포배양에 적절하도록 하는 것이다. 경제적 관점으로 보아 생물공정은 다른 공정에

비해 장점이 있어야 한다. 현재 사용되고 있는 생물공정은 대부분이 유일의 방법이기 때문에 채택되고 있으며; 경쟁공정과 경제성의 우위에 있기 위해 앞으로 유전공학적 기술이 이용되리라고 기대된다.

생물공정의 장점을 살펴보면,

- 완만한 반응조건(온도, 압력, PH)
- 천연의 biomass 이용
- 1회 투자에 의한 통일 장치로 여러가지 product 생산 가능
- 촉매 반응의 특이성
- 적은 초기투자(비 장치산업)
- 안전한 작업조건

그리고 생물공정의 단점은,

- 복잡한 대사 생성물에서 원하는 물질을 얻기 위한 분리, 정제과정의 복잡
- 저농도의 반응물에 부수되는 문제 - 다량의 공정에 필요한 물, 폐수처리, 농축하는데 필요한 높은 에너지 비용

생물공정의 장점을 이용한 현재 채택되고 있는 공정은,

- 이 성질체 중에서 한가지 화합물만 생산(특이성)
- 항생제나 단백질 같이 복잡한 분자 구조의 물질 생산(유일성)
- 높은 수율의 생화학 반응에 의한 생산(완만한 반응조건)

생물공정의 단점을 유전자 조작으로 미생물을 변형시킨다면 해결할 수 있겠다.

즉 고농도의 기질에서 자라거나 고온에서 자라 오염을 방지할 수 있는 미생물을 만드는 일이다.

(i) 생물공정의 기본

생물공정의 단계는 Fig. 7 에 설명되어 있다. 기질과 영양분이 멸균된 배지 속에 있고 공정내에 생물촉매, 즉 세포나 효소를 그대로 또는 고정화 시킨 상태로 주입한다. 조절된 반응 조건하에서 기질은 생성물로 전환되고 전환율이 적정수준이 되었을 때 반응을 멈추게 된다.

대부분의 생물반응은 수용액상에서 일어나며 생성물은 보통 희석된 수용액으로부터 정제된다. 영양분으로 공급되는 것은 탄소, 질소, 산소, 인, 그리고 미량의 비타민, 무기이온들이다. 탄소원은 다양하며 당, 전분, 지방 또는 석유등이 될수가 있다. 질소와 인은 세포의 구조와 기능분자로 된다. 대부분의 산업 미생물은 호기성이며 많은 산소를 기포상태로 공급하여 주어야 한다.

기질과 영양분이 생물축매와 용이하게 접촉하기 위해서는 배지를 잘 교반하여야 한다. 특히 곰팡이 종류의 배양에 있어서는 배지의 점도가 높아지기 때문에 많은 교반 동력이 필요하게 된다.

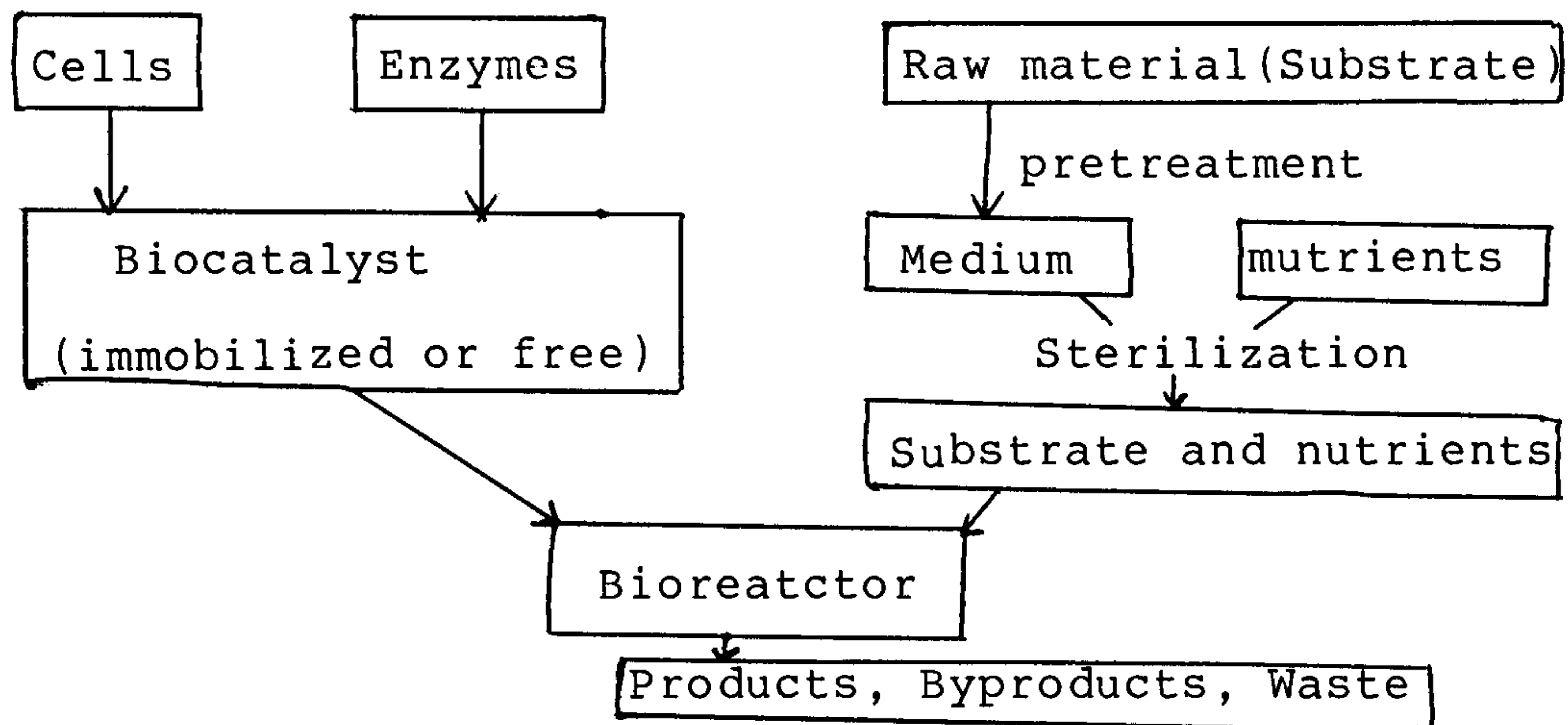


Fig. 7 Steps in Bioprocessing

오염을 피하거나 줄이기 위해 대부분의 생물공정에서는 (pure culture) 순수 배양법을 채택하고 있다. 배양액과 용기들을 멸균시키고 한종의 미생물만을 넣는 방법이다. 계속해서 공급되는 공기도 Filter 를 통해 걸러져야만 한다. 장치도 특별히 설계되고 조작되어서 원하지 않는 생물체가 침범하는 것을 최대한으로 줄여야 한다.

(ii) 생물공정의 조업 방법

화학공정에서와 같이 생물공정도 회분식과 연속식으로 조업한다.

회분식에서는 반응조에 기질과 영양분이 들어있는 배양액으로 채우고 멸균한후 여기에 생물촉매를 가하며 수시간에서 수일간에 걸쳐 반응이 일어나도록 하는 것이다. 반응이 완결되었을때 반응조를 비우고 정제를 시작한다.

연속식에서는 feed 가 반응조에 계속 공급되며 사용된 배양액과 생성물은 계속 제거 함으로써 같은 양의 반응물이 남아 있게 된다. 이때 생물 촉매가 계속 반응조안에 남아 있게 하기 위해 고정화 기술이 개발되었다. 고정화 방법은 수용액상에 녹아 있는 생물촉매를 화학적이나 물리적 결합으로 고체담체에 매어둠으로써 반응조에서 배양액이 제거될때 같이 따라 나가는것을 방지하는 것이다.

Fig. 8 에 효소와 세포를 고정화시키는 개념을 약술하였다.

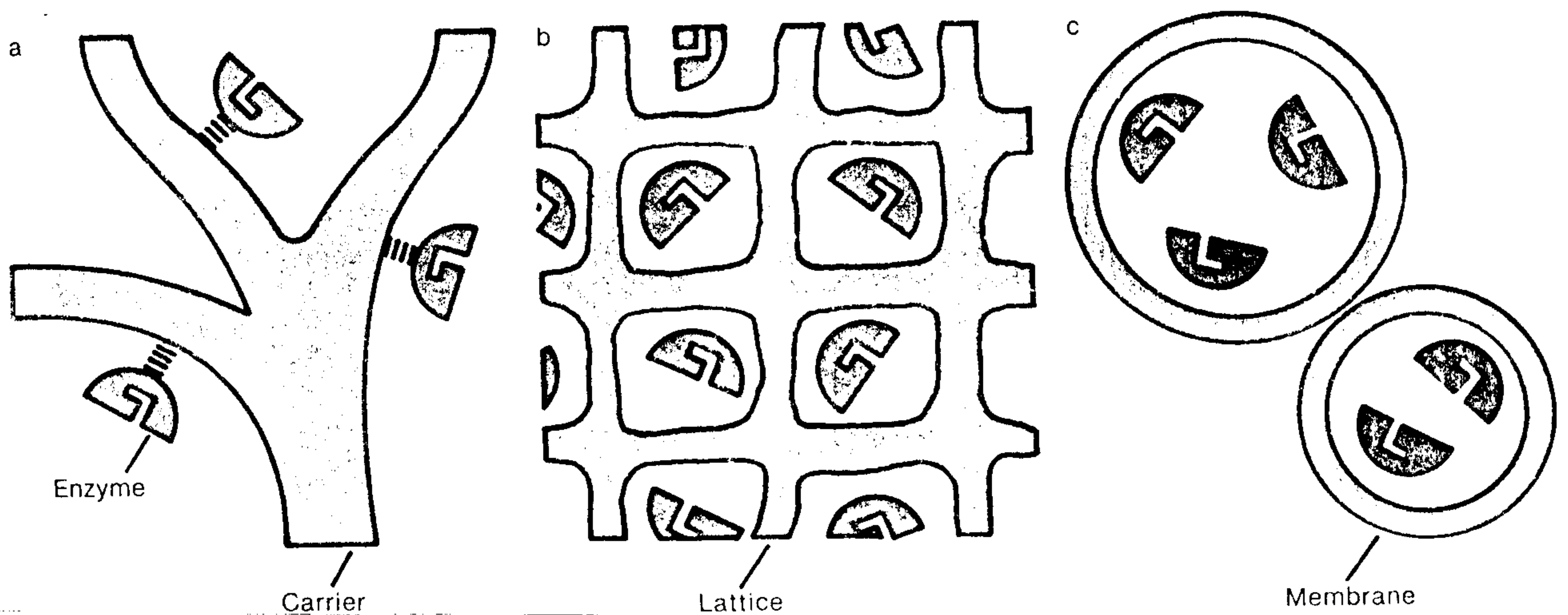
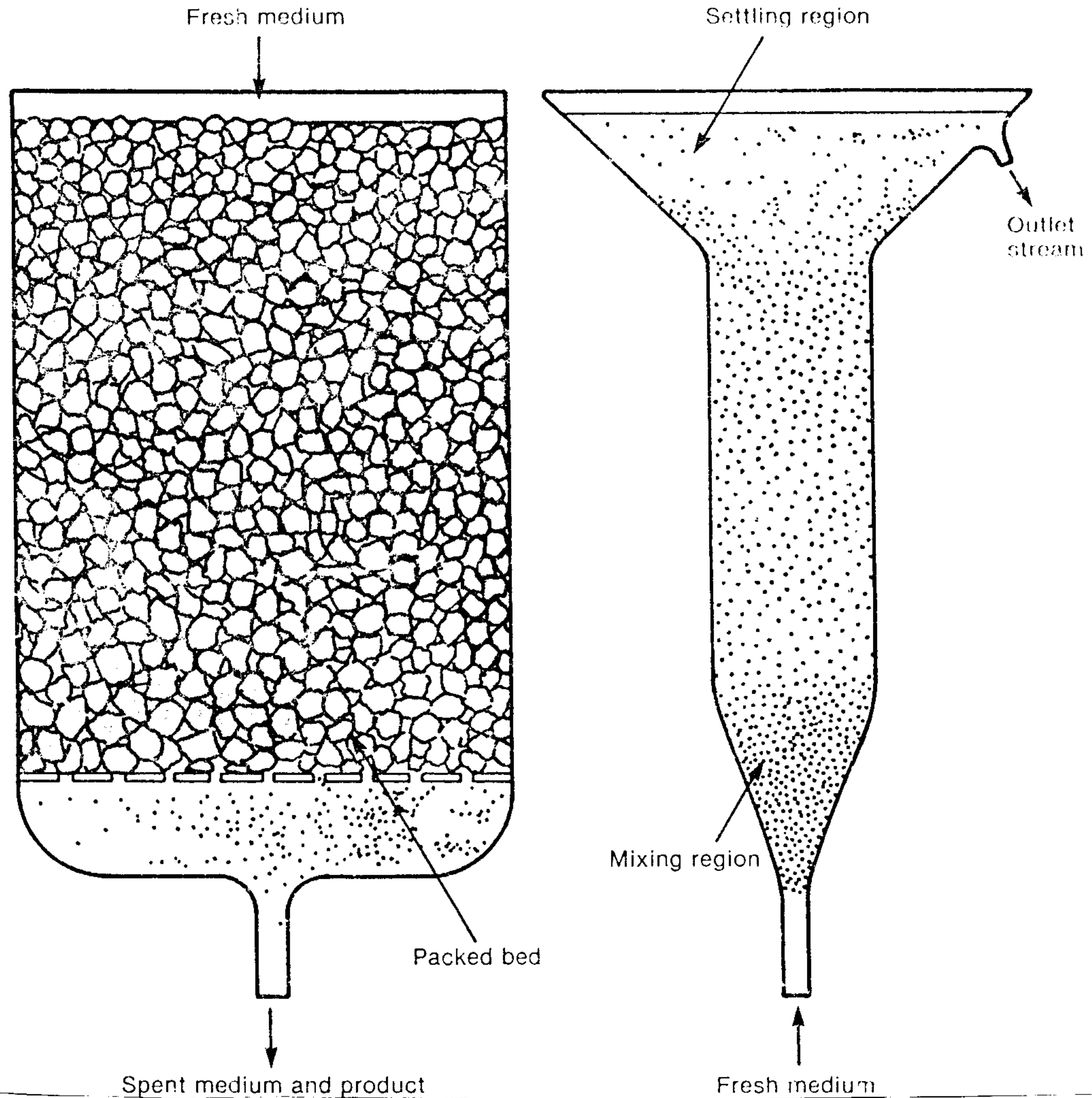


Fig. 8 효소와 세포 고정화 방법

연속 생물공정에 쓰이는 장치들은 화학공정에 쓰이는 장치들을 응용한 것들이 많다. 고정화된 생물촉매를 충전탑에 채우거나 유동층에서 유동시키며 feed 를 공급해 연속 반응을 시키는 것이다.

Fig. 9 에 연속 생물공정 장치예를 보이고 있다.

Fig. 9. Packed Bed and Fluidized Bed Bioreactors



실제에 있어 연속식 생물공정을 개발하는데 몇가지 문제점이 있으며 이로 인해

아직 회분조작이 대중적이다. 문제점으로는,

- 장기간에 걸친 생물 촉매의 안정성 문제
- 장기간에 걸친 오염방지의 기술 미비
- 항생제와 같은 2차 대사 산물의 연속조업에서 최적조건 확립의 어려움이있다.

(iii) 생물공정의 제어와 기기

생물공정 변수들은 미세하게 조절될 필요가 있으나 연속적으로 측정가능한 변수는 온도, PH, 용존 산소량, 기체의 방출조성등 몇가지에 제한되어 있다.

영양분의 농도를 측정하기 위해서는 시료를 반응기 밖으로 꺼내 분석하는 수 밖에 없다. 세포의 농도 또한 혼탁도를 재기 위해 시료를 필요로 한다. 따라서 멸균 가능한 감지기의 개발이 계속 필요하며 생물공정 자동화의 선결조건이 된다. 컴퓨터가 장치된 생물공정은 생물반응이 일어나고 있는 동안 생육조건을 감시하고 조절하는 것을 용이하게 한다. 컴퓨터는 감지기로 부터 얻어진 자료를 분석하고 공정 변수를 조절할수 있다.

(iv) 생성물의 분리와 정제

생물공정에서 사용되는 분리와 정제기술은 특히 단백질 분리에 밀접한 관련을 갖고 있다. 배지내에서 가능한 불순물을 최소화하고 선택적 회수법의 연구 필요하다. 새로운 회수 및 정제기술 이 발달하고 있으며 그 기술로는

- 한외 여과법(Ultrafiltration) - 막이나 다공성 재질에 의한 여과
- 크로마토그래피와 HPLC - 실험실용 크로마토그래피(이온, Gel Permeation, Affinity) 와 HPLC 의 대규모화가 연구되고 있다.
- 전기영동 - 전하에 따라 전기장내에서 분리하여 정성용으로 사용되는 실험실적 장비를 연속장치로 개선하여 생산용으로 이용하려 하고 있다.
- 단일클론항체 - Affinity 크로마토 그래피의 ligand 로 이용

(v) 고등 동물세포의 배양

대규모 생물공정에서 가장 광범위하게 사용되었던 생물은 세균과 같은 무핵 세포 또는 효모와 같은 단순한 유핵 세포였다. 세균을 배양하기 위해서 개발한 기술은 고등동물세포의 배양에 적합하지 않다. 동물세포의 크기는 세균보다 크고 약해서 심한 교반에 견디지 못한다. 동물세포를 배양할때 혈청을 필요로하는데 혈청의 구성 성분은 복잡하여 잘 알려져 있지 않다. 세균 세포와는 달리 동물세포는 주위 환경에 노출되어 있지 않고 항상 순환 계통에 둘러싸여 있다. 이 순환계통은 영양분을 공급하고 폐기물을 제거한다. 동물세포 배양액은 처음에는 깨끗하고 영양상으로 균형이 이루어지나, 세포들이 영양분을 취하고 폐기물을 냄으로써 배양액은 세포성장에 저해 요인이 된다. 이점을 고등동물 세포배양에 고려하여야 한다.

한편 어떤 고등동물의 세포는 세균과 같이 액체상에서 자랄수 있으나 대부분의 고등동물 세포는 고체면에 부착하여야만 자랄수 있다. 세포 고정화기술을 이용해서 동물세포를 작은 구슬이나 막 표면에서 자라게 할수 있다.

동물세포 배양의 필요성은

- 동물세포가 만드는 단백질은 재조합 유전자 기술로는 세균에서 발현시킬수 없다.
- 세균은 당 단백질과 같이 단백질 구조 변화 능력이 없기 때문에 동물 세포를 사용해야 한다.
- 단일 클론 항체를 생산하는 잡종 세포를 대량 배양해야 한다는 점에 있다.

(3) 생물공학의 산업적 이용

향후 5년에서 10 년 사이에서 생물공학의 상업화는 의약품, 가축약품, 그리고 Specialty chemicals 에서 일어날것 같다. 현재 의약품이 연구가 가장 활발한 생물공학의 분야이다.

(3-a) 의 약 품

바이러스는 면역반응을 일으키는 여러 단백질로 구성되어 있다. 종래의 백신은 바이러스를 죽이거나 약화시켜 몸에 주사한후 인체의 면역을 얻는 것이었다. 유전 공학적 백신은 면역반응을 일으키는 단백질을 세균을 이용해 만드는 것이다. 바이러스의 단백질의 아미노산 배열을 안후 이것을 이용해 재조합 DNA 를 만들어 세균에 집어 넣어 주는 것이다.

과거에 호르몬 생산은 조직에서 추출하거나 간단한 스테로이드 같은것은 화학 합성을 하였다. Insulin 은 돼지의 췌장에서 추출하였으나 알러지 반응등의 부작용이 있었다. 또 원료의 공급에 제한이 있었기 때문에 유전자 조작에 의해 대장균에서 Insulin 이 대량으로 생산되도록 하였다.

인간 성장호르몬(human growth hormone) 은 Insulin 에 이어 2번째로 산업화된 유전공학 제품이며 Tissue Plasminogen Activator(TPA) 는 피가 응고되는 것을 막는 호르몬으로서 임상실험중이다.

재조합 DNA 기술에 의해 생산되거나 개발중인 의약품으로 α , β , γ --인터페론, 인터루킨등이 있으며 이것들은 인체의 면역기능을 강화시키는 작용을 한다. 단일 클론 항체에 의한 진단시약의 생산은 유전공학사업중 최초의 품목들로 기록되었으며, 이는 임상실험의 용이성 때문이었다.

(3-b) 가축약품

동물백신의 경우 인체 백신의 경우와 달리 임상실험이 없기 때문에 많은 제품들이 곧 나오리라 기대된다. 그런데 가축업자들은 비싼 유전공학 제품을 이용하기 위해 많은 비용을 쓸수 없기 때문에 market 크기가 문제가 될것이다. 동물성장 호르몬은 supersize 의 동물을 만들기 보다는 성장을 촉진하거나 우유 생산량을 증가시키기 위해 사용될것이다.

(3-c) Specialty chemicals

이 분야에 대한 생물공학의 응용은 다른 물질의 상업화에 비해 다양할것이다. 현재 사용되고 있는 아미노산 균주의 개량이 한 예가 될수가 있겠다. 화학 합성을 포함하는 다단의 제조공정을 거쳐 만들어 지는 비타민이나 스테로이드류에도 응용될것이다. 효소는 생물촉매로 작용하는 단백질로 생물공정에 의해서만 생산할수 있다. Protease 는 세제에 사용되며 Rennin 은 치즈제조에 사용되는데 효소중 가장 먼저 유전자조작된 미생물에서 생산될것이다.

(3-d) 식품과 알코올 음료

알코올 생산에 유전자 조작된 효모를 이용하려는 연구는 많이 수행되었고, 생물공정개발에도 많은 발전이 있어 고정화 효모를 이용해서 연속 생산까지 이루어지고 있다.

감미료 분야에서는 포도당 이성화 효소를 이용해 고과당시럽을 생산하고 있고 이 공정은 고정화 효소를 이용한 대표적 공정으로 널리 알려져 있다.

설탕보다 200배 단 Aspartame 은 as partic acid 와 phenylalanine 의 복합체인 peptide 로 phenylalanine 생산에 재조합 DNA 기술이 도입되었다.

단세포 단백질(Single Cell Protein) 은 Airlift fermenter 라는 특수한 형태의 대규모 fermenter 를 사용한 성공적 예이다.

2. 발 효

발효는 생물축매를 이용해 feed 를 product 로 바꾸는 생화학 반응이다. 생물축매로 사용되는 것은 박테리아, 효모 그리고 곰팡이 이다. 발효조는 bioreactor 라고도 불리우며 bioreactor 는 보다 포괄적인 개념이다. 즉 효소반응조, 동물세포 배양조 까지 포함해서 bioreactor 라고 부른다. feed 는 발효에서 기질(substrate) 이라고 부르며 미생물에 에너지를 공급하거나 product 를 생산하기 위한 탄소원으로 되어 있다.

발효에서의 생화학 반응을 표시하면,

영양분(Nutrients) + 탄소원(Carbon source) + 산소(Oxygen)

미생물(Microorganism) → 생성물(Products) + 부산물(Byproducts) + 열(Heat)

Bioreactor 는 여러 기술이 복합된 단위공정으로 생물화학공업에서 주목받는 분야이다.

Bioreactor 중 발효조는 Fig. 10 에 있는것과 같이 복잡한 주변장치를 포함한 회분 교반조이며 설계에 있어 다음과 같은 점을 고려하여야한다.

- 생물 반응 속도
- 멸균 방법
- 교반(유체운동)
- 기질의 물질전달
- 산소의 전달
- Product 의 물질전달
- 열의 제거
- 제어와 계장

(1) 멸 균

발효 개시전에 모든 원하지 않는 미생물은 steam 에 의해 멸균된다. 대개 121°C 에서 최소한 30분정도 열을 가하면 열에 강한 포자까지 죽이게 된다.

발효조 배지는 고가이므로 표준화된 방법에 의해 멸균을 하여야 한다. 대규모 발효조에서는 연속 멸균 장치가 사용되는데 그 원리는 Fig. 11 에 설명되어 있다.

Fig. 10 전형적인 발효조와 주변장치

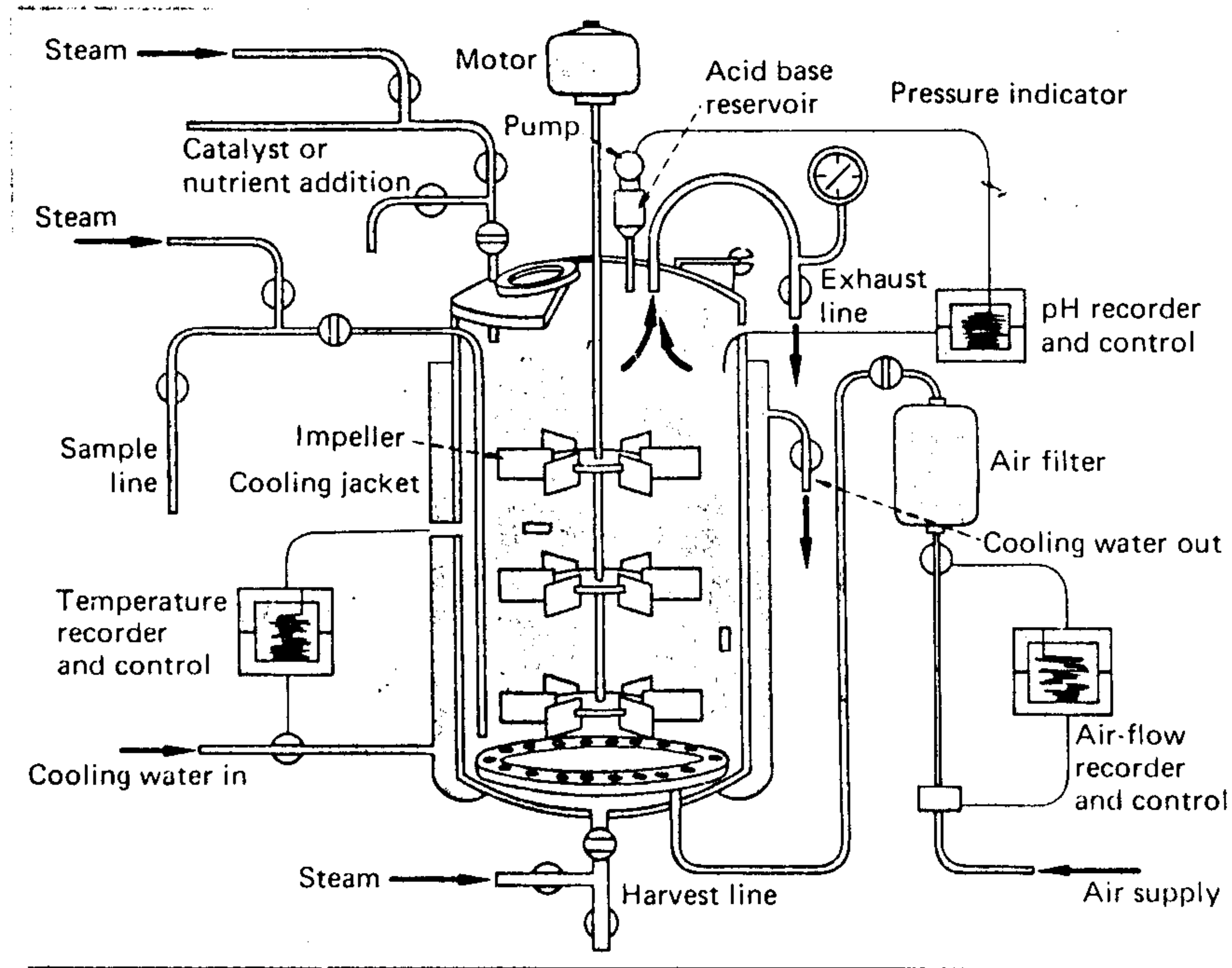
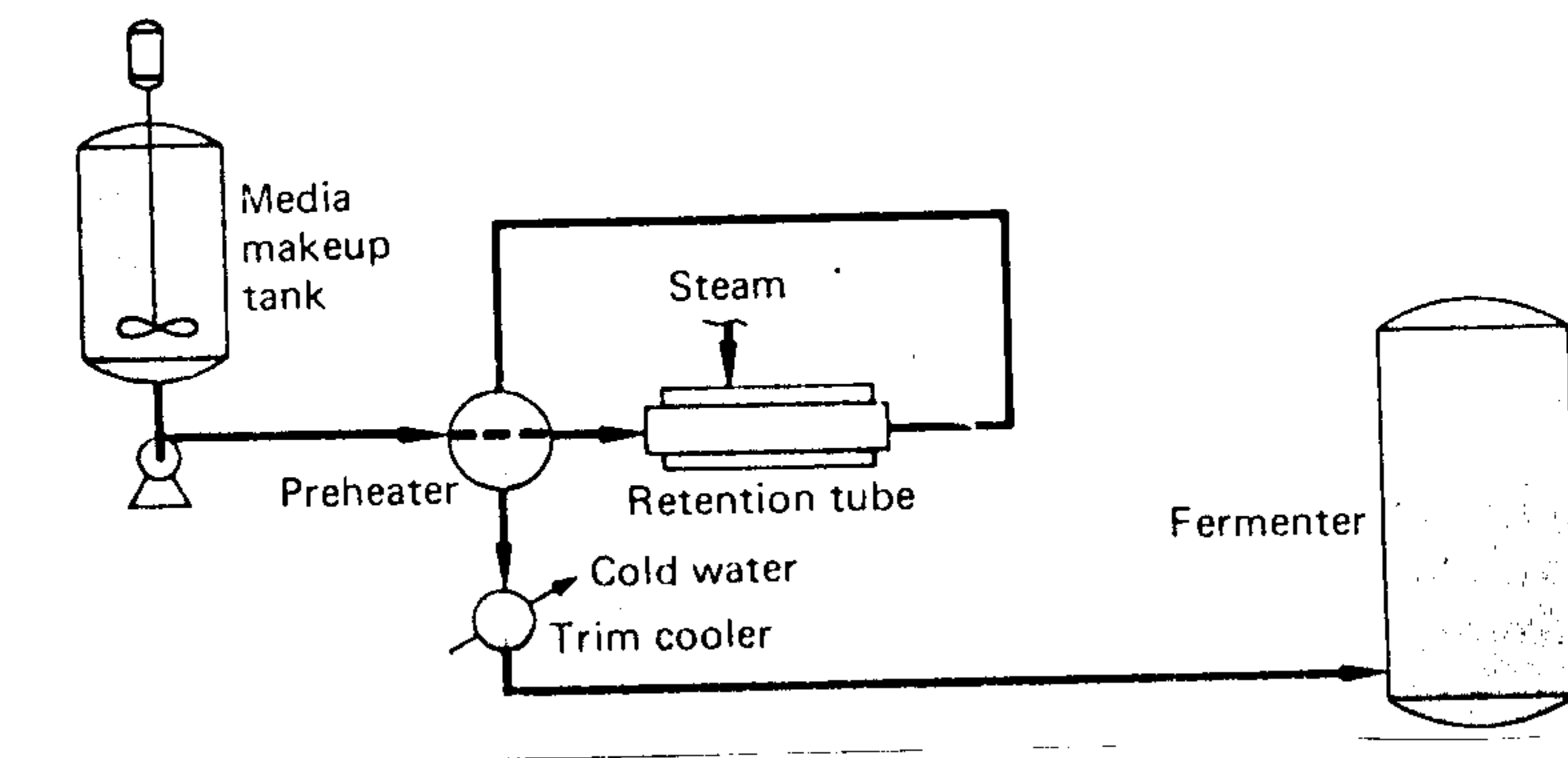


Fig. 11 연속 멸균 장치



연속 멸균 조업은 138°C 에서 체류시간 5분 정도를 요한다. 회분식으로 멸균된 경우는 멸균된 고압공기를 이용해 한 탱크에서 다른 탱크로 이송할수 있다. feed 물질이 고온에 견디지 못할 경우 feed 액을 미생물이 걸터지는 filter 를 통해 미생물을 제거할수 있다. 멸균 필터의 막의 구멍크기는 0.2 μm 보다 작다. 발효조에 공급되는 공기도 필터를 통해 멸균한다. 공기는 멸균후 발효조에 걸리는 음압을 제거하는데 사용하기도 한다. 발효조에 연결된 파이프들도 외부와 격리되어 멸균상태를 유지하여야한다. 따라서 밸브나 fitting 의 선택에 있어서도 주의를 요한다. 교반축에는 보통 double mechanical seal 을 채택한다.

(2) 교 반

교반을 잘하면 산소, 열, 기질, Product 의 물질전달이 개선되기 때문에 발효조내의 모든 지점에서 동일성을 유지하는 것이 교반의 목적이다. 박테리아의 경우는 배지의 유동이 Newtonian 유체의 성질을 갖기 때문에 교반이 용이하나, 곰팡이의 경우 자라면서 점도가 대단히 커지고 non-Newtonian 의 성질을 갖게되어 교반이 힘들어지게 된다.

(3) 산소전달

상업적으로 중요한 발효는 대부분 호기성 미생물에 의해 이루어지며 산소는 압축공기를 배지안에 sparger 를 통해 분산시킴으로써 이루어진다. 산소의 용해도는 보통 미생물의 성장에 충분한 만큼 크지 않기 때문에 산소전달은 발효조 설계에 있어 아주 중요하다. 산소전달이 미생물 성장속도에 미치지 못하게 되면 product 의 생산은 저해되게 된다.

발효에서 산소전달을 나타내는 척도는 $K_L a$ 이다. 여기서 K_L 은 공기방울에서 액체로 산소가 전달될때 액체 film 의 전달계수이고 a 는 단위 체적당 기액 계면의 면적이다. 보통 a 항을 측정하는 것은 힘들기 때문에 $K_L a$ 로 묶어서 측정한다.

산소전달을 표현하는 식은,

$$\text{OTR} = K_L a (C^* - C_L)$$

여기서, OTR = Oxygen transfer rate

K_L = Oxygen transfer coefficient

a = interfacial area for oxygen transfer

C^* = equilibrium dissolved-oxygen concentration

C_L = dissolved-oxygen concentration

$K_L a$ 계산하는 방식은 다음과 같다. 일정시간동안 산소 소비량을 발효조 배출 가스의 농도를 측정해서 계산한다. C^* 는 온도와 압력이 정해지면 기체내 산소의 농도에 따라 주어진 값이며 C_L 은 산소 전극을 이용해서 잰다. OTR 와 $C^* - C_L$ 에서 $K_L a$ 값을 계산하게 된다. 따라서 $K_L a$ 는 발효조의 산소전달 능력을 표시하게 된다. 발효조의 산소전달에 미치는 인자들을 살펴보면 다음과 같다.

(3-a) Vessel design

교반기와 용기의 지름비는 0.3-0.5 이며 baffle 의 위치와 design 은 액체 교반에 영향을 줌으로써 산소전달 속도를 바꾼다.

(3-b) Power input

교반은 액체에 반경속도를 가함으로써 기체의 체류시간을 조절한다. 교반속도가 빨라질수록 기포가 깨어져 기-액계면의 면적이 증가한다. 이 효과를 Watts/Volume 으로 표시하며 $K_L a$ 에 크게 영향을 미치는 인자이다.

(3-c) 교반기 설계

보통 교반기는 4, 6, 8 blade 로 된 flat-blade turbine 형의 impeller 이며 발효조의 크기가 커지면 2, 3개의 impeller 가 교반축에 달리게 된다. impeller 사이의 간격은 impeller 직경의 2배이상인 것이 아니며 간격이 중요한 설계 인자이다.

(3-d) 발효조내의 압력

압력을 높이면 산소의 용해도가 증가하지만 CO₂ 같은 대사 노폐물도 역시 축척이 되어 미생물의 성장에 나쁜 영향을 미치게 된다. 발효조가 커지게 되면 발효조 바닥은 static head 로 인해 산소 용해도가 달라지게 되며 K_La 에 영향을 미친다.

(3-e) 배지의 물성

배지의 점도, 이온 농도는 기포 크기에 영향을 주어 K_La 에 변화를 준다.

(3-f) Antifoam

발효가 진행됨에 따라 단백질, 지방산 같은 계면의 성질을 바꾸는 물질이 증가하고 foam 이 생기게 된다. foam 은 조절하지 않으면 배지나 미생물이 발효조 밖으로 유출되므로 지방이나 고급 알코올계의 Antifoam 으로 foam 의 양을 조절하게 된다. Antifoam 을 배지에 가하게 되면 K_La 값을 감소시키며 감소 정도가 30% 까지도 된다고 한다.

발효조에서 유효체적은 75% 정도로 25% 정도의 윗부분은 foam 발생을 대비해 유히 공간으로 한다.

(4) 열 전 달

발효조내의 온도는 좁은 범위에서 조절되어야 한다. 대부분의 발효는 30-37°C 사이에서 일어나며 ± 1°C 로 조절되어야 한다. 냉각수로는 냉각용량이 큰 chilled water 를 쓰는것이 온도제어 하기가 편하며 발효공장에는 냉각 시스템을 갖춘곳이 많다. 발효조내에서 발생하는 열 Q 는 다음과 같이 구성되어 있다.

$$Q = Q_m + Q_A + Q_E + Q_{ATR} + Q_{ENV}$$

여기서, Q_m = heat generated by the microorganism

Q_A = heat input from the agitation system

Q_E = heat loss due to evaporation

Q_{ATR} = sensible heat of the incoming air stream

Q_{ENV} = heat gain(or loss)from the environment to the fermenter

Q_m 이 Q 의 70-80% 로 대부분을 차지하며

$$Q_m \left(\frac{\text{Kcal}}{\text{L.min}} \right) = 0.12 M_{O_2} \left(\frac{\text{millimoles}}{\text{L. min}} \right) \text{ 으로 correlation 된다는}$$

보고가 있다. 여기서 M_{O_2} 는 산소 소모량을 의미한다. 잘 단열된 대규모 발효조에서 Q_E , Q_{AIR} , Q_{ENV} 는 무시할 만큼 작으며 Q_A 는 Q_m 다음으로 중요하다. Q_A 는 Q 의 20-30% 를 차지한다.

발효조의 냉각 시스템 설계는 발효조의 크기에 크게 좌우된다. 작은 규모에서는 jacket 로 충분하나 큰 규모에서는 내부 코일이나 외부 열 교환기가 필요하게 된다. jacket 대신 코일 냉각 장치를 필요로 하는 발효조의 크기는 1000-2000 liter 사이이다.

(5) 제어와 계장

유전공학의 발전은 발효조의 감지기, data acquisition, 제어 이론의 개발에 촉진제가 되었다. 유전자 조작된 미생물을 사용하는 발효조는 고가의 어떤 발효조보다 많은 계기가 부착되어 있다.

현재 시판되는 대부분의 발효조들은 컴퓨터가 장치되어 data acquisition 을 가능하게 하며 이로 인해 대단히 고가이다. 다른 분야 제어이론이 생물공정에 적용되어 발효조 제어에 큰 몫을 하고 있다. 특히 발효조내에서 일어나는 현상들은 대단히 복잡하기 때문에 새로운 제어이론이 많이 응용되고 있다. 발효조 parameter 들은 측정되어 저장된다. 발효조 parameter 를 측정변수와 제어변수로 나누어 설명하고자 한다.

(5-a) 측정변수

입구의 공기압과 온도는 공기 공급장치의 이상을 발견하기 위한 것이며 이상이 발견되지 않는한 조절할 필요가 없다. 입구 공기 조성은 $K_L a$ 를 계산하기 위한 중요 변수이며 조절할수가 없다. 냉각수의 입구와 출구 온도는 열 전달에 관한 중요한 정보를 제공하며 제어 변수로는 생각하지 않는다. 배지의 탁도는 미생물농도를 측정하는 척도이며 시료를 채취하여 분광 광도계로 측정하여야 한다.

최근에는 미생물의 세포구성물질인 NADH 를 online 으로 측정할수 있는 형광 감지기가 개발되어 미생물의 농도를 연속측정가능하게 되었다. 출구 기체 조성은 mass spectrometer 로 측정가능하며 O₂ 농도를 측정하여 K_La 를 계산하며, CO₂ 나 휘발성기체(ethanol) 농도를 측정하여 미생물의 대사 작용정도를 알수 있다.

(5-b) 제어 변수

용존 산소농도를 제어하기 위해 입구 공기 유속, 교반속도, 용기내 압력을 조절한다. 기질의 농도나 feed 공급속도는 product 의 생산을 최대로 하기 위해 미생물의 영양 요구량에 따라 조절된다. 온도는 냉각수의 유속에 따라 제어되고, PH 는 산이나 알칼리를 가함으로써 조절된다. foam senser 로 foam 의 위치가 일정 수준이상이면 antifoam 을 사용하게 된다.

측정변수와 제어변수를 컴퓨터가 감지해서 아래와 같은 변수를 계산하며 제어변수를 제어 algorithm 에 따라 조절한다.

- . Oxygen uptake rate
- . Carbon Dioxide evolution rate
- . Respiratory quotient (CO₂ evelution rate/O₂ uptakerate)
- . Overall oxygen mass-transfer rate
- . Heat balance
- . Metabolic-heat evolution rate
- . Cell mass concentration
- . Cell growth rate
- . Carbon utilization rate
- . Nitrogen utilization rate

분 리 공 정 (Downstream Processing)

발효가 끝난후 미생물이 포함된 배양액은 분리 혹은 Downstream processing 과정을 거쳐 최종 제품까지 간다. 생물공정에서 분리 공정은 다양하고 제품의 규격에 따라 천차만별이다. 유전공학방법에 의해 생산된 의약품 같은 종류는 고도의 순도를 요하며, 이때 분리공정이 공장공간, 투자비, 운영비에서 차지하는 비율이 반 이상이된다. 발효공정에서 product 는 미생물에 의해 배양액으로 배출되거나 미생물내에 존재하게 된다. 전자의 product 를 세포외 산물(extracellular product) 라고 하고 후자의 product 를 세포내 산물(intracellular product) 라고 부른다. 세포외 산물은 배양액에 단백질이나 유기고분자 형태로 낮은 농도로 함유되어 있고, 기포와 단백질 분해효소들에 의해 분해될 가능성이 커지므로 될수록 단시간내에 분리해내야한다. 세포내 산물일 경우 product 를 얻기 위해서 세포를 파괴하여 세포내 물질이 바깥으로 배출되도록 하여야 한다. 세포파괴시에도 product 의 손실을 막기위해 시간을 줄이는 것이 필요하다.

Downstream processing 은 회수(recovery) 와 정제(purification) 으로 대별한다. Table 1 에 분리과정에 쓰이는 기술들을 정리하였다.

Table 1. Separation techniques

<u>Separation techniques</u>	<u>Recovery</u>	<u>Purification</u>
Cell distruption	0	
Centrifugation	0	
Vacuum filtration	0	
Ultrafiltration	0	0
Precipitation	0	0
Chromatography		0

4. Scale-up 기술

(1) 발 효

(1-a) 서 론

신뢰할만한 발효조의 scale-up 은 힘든 작업이나 이론상 아래의 조건을 만족한다면 scale-up 을 예측할수 있다.

. 모든 scale 이 같은 교반형태와 산소전달속도를 갖는다.

. 배양액의 환경 변화와 미생물의 적응도를 시간과 공간에 따라 예측할수 있다.

실제로 이상의 조건을 만족할수 없으므로 우리는 무차원 보정식이 scale 에 관계없다고 가정하고 경험식에 의존하여야 한다. 그러나 경험식에 의존하는데는 중요한 이론적 제한이 있다. 예를 들면 같은 $K_L a$ 와 공기의 선속도(V_S) 를 갖도록 두 scale 을 유지한다고 하자. 이때 배양액의 물성은 같다고 가정한다. $K_L a$ 의 보정식은

$$K_L a = \alpha_1 \left(\frac{P_G}{V}\right)^{b_1} V_S^{b_2}$$

여기서 P_G 는 공기 공급에 쓰이는 동력, V 는 발효조의 부피, α_1 , b_1 , b_2 는 상수이다. P_G 의 보정식은

$$P_G = \alpha_2 (P_o^2 N D_i^3 / Q^{0.56})^{b_3}$$

여기서 P_o 는 교반에 사용되는 동력, N 는 교반기 속도, D_i 는 교반기 직경, Q 는 공기 공급 유량, α_2, b_3 는 상수이다.

두식을 결합하고 1, 2 두 scale 의 비를 내어 보면

$$\frac{N_2}{N_1} = \frac{(D_i)_1}{(D_i)_2} \frac{1.48 b_3 - 0.5}{b_3}$$

geometric similarity 를 만족하려면 $\frac{(D_i)_1}{(D_i)_2}$ 는 고정되고, N_2 는

다른 중요한 변수와 함께 고정이 된다. 따라서 고정된 변수의 수효는 몇개 되지 않고 나머지 변수들중 고정시킬것을 찾는것이 힘들다.

이외에 scale-up 을 힘들게 하는 요인으로

(i) 배양액이 non-Newtonian 인 경우 $\frac{N_2}{N_1}$ 의 비는

$$\frac{N_2}{N_1} = \left[\frac{(Di)_1}{(Di)_2} \right] f(n, k)$$

로 액체의 물성(fluid consistency k, flow index n) 에 좌우된다. 이 식은 두 scale 에서 시간과 공간에 따라 k, n 의 값이 같이 변하다는 가정을 적용한 것이나 이는 현실상 불가능하다.

(ii) 배양액의 물성은 시간에 따라 변하고 Newtonian 액체로 시작한 배양액이 non Newtonian 액체로 변할때 보정식을 적용하기 힘들다.

(iii) V_S 는 같지만 scale 에 따라 기포의 상태는 바뀐다.

(iv) scale 이 커질수록 표면으로 공급되는 공기의 양은 줄어진다.

(v) 믿을만한 보정식이 없다. (대개 보정식은 실험한 scale 에서 얻은것으로 다른 scale 에서 적용하기 힘들다)

이상에서 논한바와 같이 무차원 보정식을 발효의 scale-up 에 적용할때 곤란한점이 많으므로 발효의 scale-up 은 경험과 실험에 의존을한다.

또 하나 제안될수있는 방법으로 $K_L a$ 와 stress 를 두 scale 에서 같도록 실험하는 일이다. 이 방법의 선행조건으로,

- . $K_L a$ 와 Stress 의 변화에 대한 미생물 반응을 측정하는 방법,
- . $K_L a$ 와 Shear 를 측정하는 방법,
- . 표면으로 aeration 되는 양의 측정방법등을 확립하여야 하는데 이것도 미비하여 앞으로 연구해야할 과제이다.

발효조의 scale-up 은 앞으로 연구되어야 할 문제가 산적되어 있으며 biochemical engineer 가 신경을 써야 할 분야이다. 교반과 산소 전달에 관하여서는 scale-up 할때 지침이 될 사항이 비교적 정리되어 있으므로 이데 대해 정리해 보겠다.

(1-b) 교 반

교반에 사용되는 동력은 발효조에 사용되는 총동력의 85-95% 정도로 막대하고 대규모 발효조에서는 대개 2.5Hp/100gal 이다. 교반동력을 계산할수 있는 보정식은 몇개 있으나 보정식을 사용하여 계산한 값의 신뢰성이 적어 지침정도로 사용할수 밖에 없다. 가장 많이 사용되는 동력 계산식은 Oyama and Endoh 식과 Michael-Miller 식으로 Fig. 19, Fig. 20 과 같은 그래프로 나타내진다.

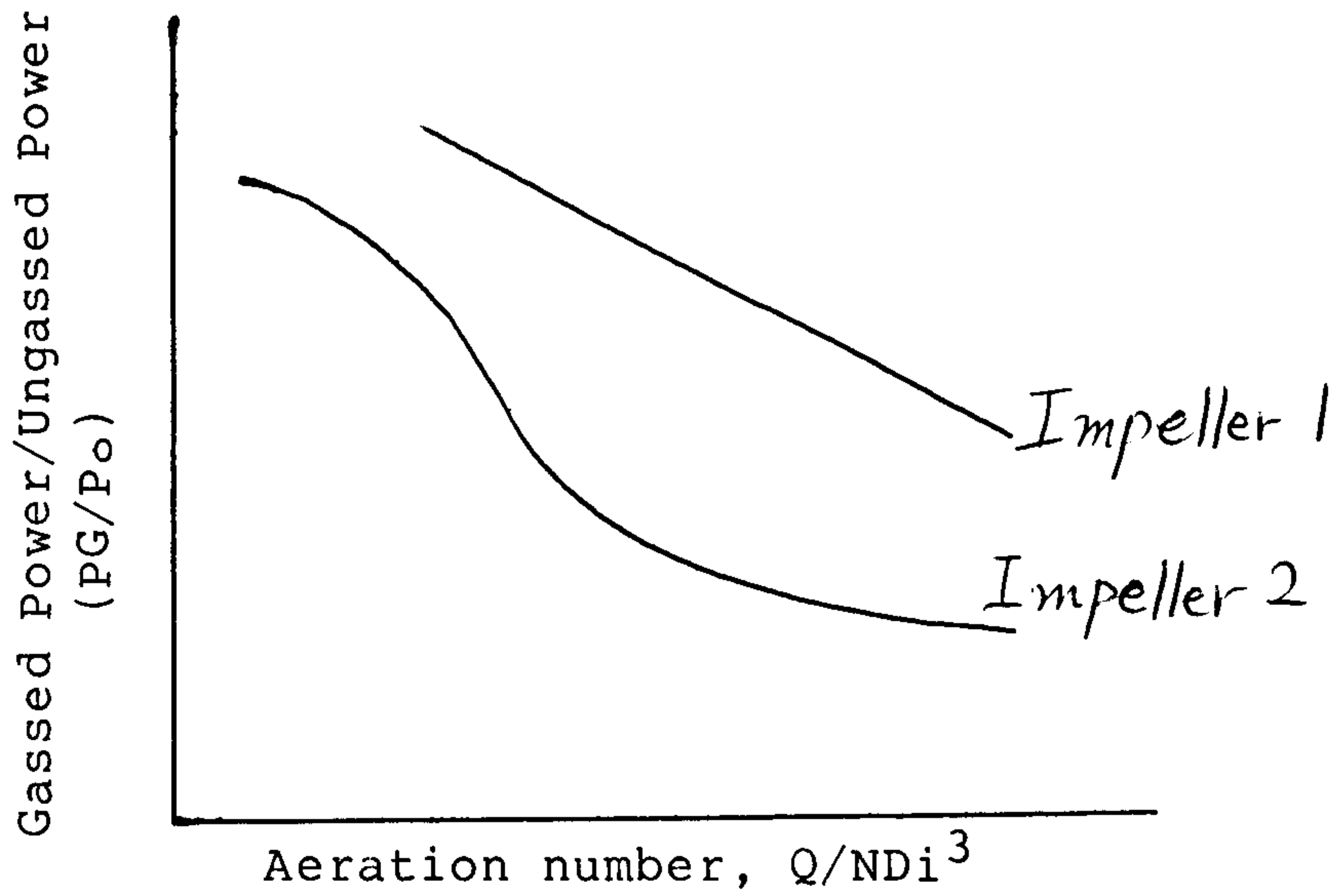


Fig. 19 Oyama 와 Endoh 의 동력 보정식

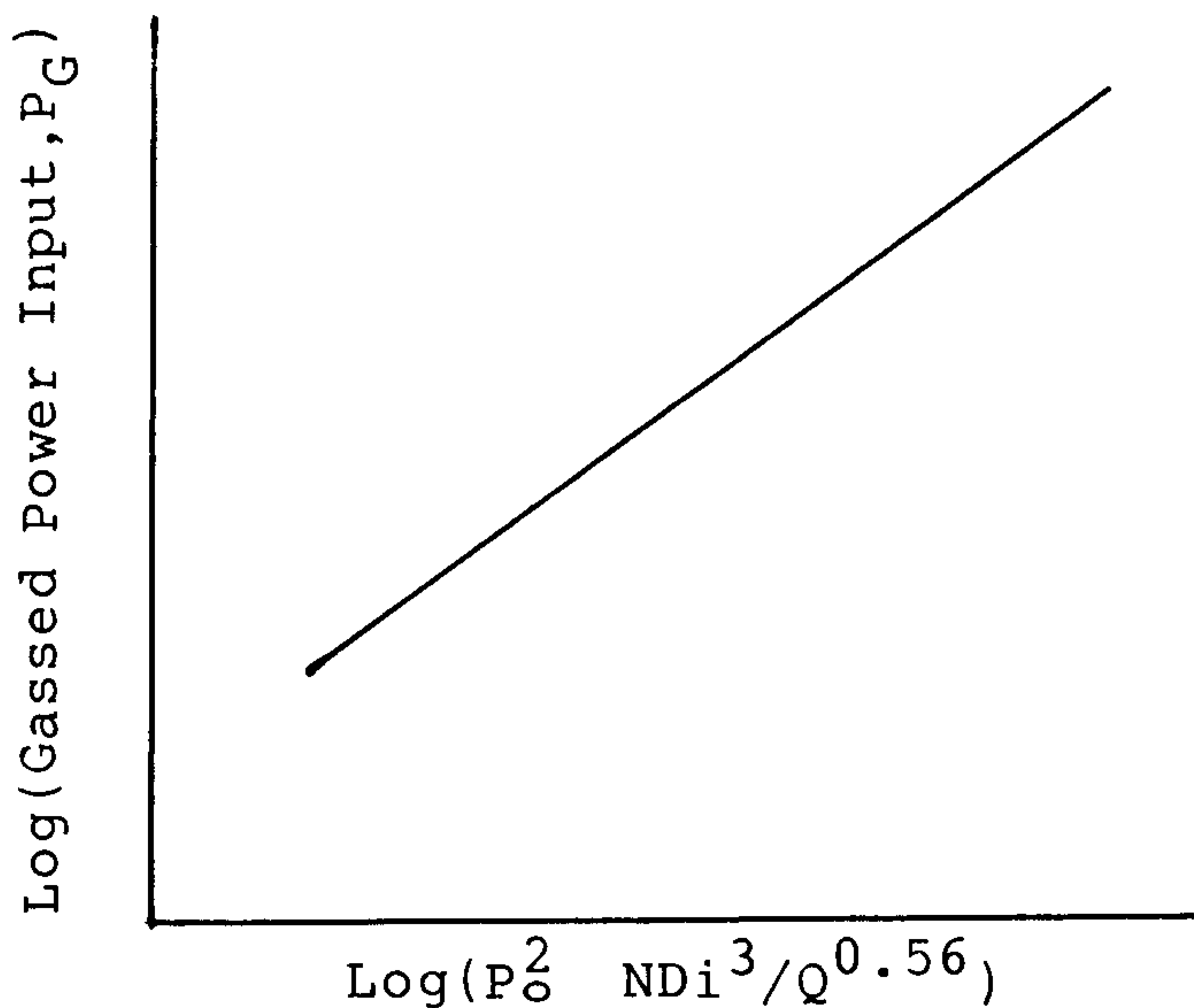


Fig. 20 Michael-Miller 의 동력 보정식

두 보정식으로 아래조건에서 동력을 계산해본다.

$$V = 100,000 \text{ liter (tank volume)}$$

$$D_T = 4 \text{ m (tank diameter)}$$

$$D_i = 1.6 \text{ m (2 turbin impeller diameter)}$$

$$N = 120 \text{ rev/min (agitator speed)}$$

$$Q = 20,000 \text{ SLPM (air flow rate)}$$

$$\mu = 1 \text{ cp (broth viscosity)}$$

Michael-Miller equation 에 의해서 $P_G = 895\text{HP}$

Oyama-Endoh $P_G = 548\text{HP}$

두식의 결과는 약 60% 차이가 있어 특이한 차이는 아니지만 보통은 그 차이가 더 크게 난다.

(1-c) 산소전달

산소전달을 나타내는 보정식은 여러개 있으나 그사이의 차이가 많이 난다. Table 5 에 그 예를 보이고 있다.

Table 5. Volumetric oxygen transfer coefficient (K_V) correlations and calculated oxygen transfer rate for Newtonian fluids.

Correlation	Transfer rate ($\frac{mM}{l \cdot h}$)	연구자
$K_V = a_1 (P_G/V)^{0.95} V_S^{0.67}$ ($A_1=100$ for $V_S \approx 100$ cm/min)	816	Cooper et al. (1944)
$K_V = 924.5 (P_G/V)^{0.69}$	-	Old shue (1983)
$K_V = 0.6 (P_G/V)^{0.4} V_S^{0.5} N^{0.5}$	432	Old shue (1966)
$K_V = 0.18 (2.0 + 2.8N_i) (P_G/V)^{0.77}$ (V_S) ^{0.67}	3	Richards (1961)

여기서 사용된 값, $P_G/V = 2.65 \text{ KW/m}^3 = 3.55 \text{ HP/1000 liter}$
 $V_S = 180 \text{ cm/min}$
 $N_i = 2$ (baffle #), $N = 180 \text{ rev/min}$

(1-d) 결 론

현재 사용되고 있는 scale-up 방법은 경험에 의존하고 일관성이 없으므로 앞으로 scale-up 에서 일관성있게 연구를 다음 방향으로 진행하여야 할것이다.

- (i) 미생물과 배양액의 물성에 관한 data base 를 만들어야 한다.
- (ii) 배양액을 사용한 정확한 $K_L a$ 나 동력계산용 보정식을 만들어야한다.
- (iii) 물성이나 보정식을 위한 data 를 얻기 위해 발효조의 계장을 개선하여야한다.
- (iv) Scale-up 을 위한 scale-transition 시설이 필요하다.
종래에는 lab, pilot, production 발효시설에서 얻은 data 교환이 거의 없었다.
- (v) 발효를 연구하는 기관사이에 정보교환을 체계적으로 하수 있도록 하여야한다.

Scale-up 에 관한 자료가 특히 미비한 분야는 아래와 같다.

- . non-Newtonian 배양액에서 산소전달
- . 발효조에서 열전달
- . 교반정도를 표시하는 보정식

(2-e) 결 론

앞서 논한 Downstream process 에서 scale-up 은 주로 case-study 에 그친것으로 scale-up 에 필요한 통일된 원리는 없다. scale-up 에 관하여 학교에서의 이론적 연구가 미미하여 수학적 model 이라던지, operating parameter 에 따른 performance 의 비교는 초기 단계로 발표된 연구 편수가 적다.

Scale-up 에 관한 실험적 연구는 제조회사의 Technical Data 에 많이 의존하며, 그 Technical data 는 사용기기에 대한 선전에 그치는 감이 있다.