

5장 발효공학의 현재와 미래

5.1 미생물 이용의 역사

인류는 발효의 의미를 알지 못하던 시절부터 이미 미생물을 이용한 자연발효를 실생활에 이용해왔다. 구약성경의 창세기편에 롯이 술을 마신 이야기가 등장하며 우리 조상들은 먼 옛날부터 김치, 간장 등을 발효에 의해 만들어 사용하였다.

미생물은 네덜란드의 레벤후크(Leeuwenhoek)에 의해 1676년 처음 발견된 후 이 미생물이 발효, 부패, 전염병 등의 원인임이 파스퇴르(Pasteur)와 코크(Koch)에 의해 밝혀지기까지 200여 년의 시간이 소요되었다. 파스퇴르는 프랑스 포도주 양조자들의 고충인 포도주 산패를 해결하기 위하여 연구하던 중 발효는 효모의 생활작용이며 부패는 잡균에 의해 일어난다는 것을 발견하였다. 그리고 플라스크의 목을 가늘고 길게 한 장치를 사용하여 '생명현상은 생명으로부터'라는 사실을 입증하였고 저온살균법(pasteurization)의 발명, 광견병 백신(vaccine)에 대한 면역개념도입, 발효현상의 학문적 해명 등 많은 업적을 남겼다. 코크는 현미경을 통하여 탄저균의 수포(spore)를 발견하고 생활상을 밝혔으며 감자절편을 이용한 미생물 순수분리(1880년), 폐결핵균의 발견 등의 업적을 남겼다. 한편 부흐너(Buchner)는 효모 추출액으로부터 알코올발효과정을 입증함으로써 생명현상은 생물체에 함유된 효소에 의해 이루어진다는 가설을 주장하였다(1897년). 그 후 플레밍(Fleming)은 1928년 푸른곰팡이로부터 페니실린을 발견하였고, 스텐리(Stanley)의 바이러스 발견(1935년), 크렙스(Krebs)의 산소호흡 대사과정 규명(1954년)을 거치며 생명현상에 대한 많은 연구가 이루어졌다. 1944년 그리피스(Griffith)는 폐렴균에 의한 형질전환실험에서 유전물질의 존재를 확인했고 에버리(Avery)에 의해 유전물질의 본질이 DNA임이 밝혀졌다. 그리고 1950년에 왓슨(Watson)과 크릭(Crick)에 의한 DNA 이중나선구조의 규명은 현대 분자생물학(molecular biology)의 근간을 이루게 되었다.

5.2 미생물 이용의 장단점

미생물을 공업적 생산수단으로 이용할 때 화학공정에 비하여 장단점이 있다.

5.2.1 미생물 이용의 장점

미생물을 이용한 생산공정의 장점은 그 내부에 있는 효소의 촉매로서의 장점과 관련이 있다. 즉, 다양한 기질을 이용할 수 있고 반응에 특이성이 있다. 미생물은 또한 동·식물세포에 비하여 증식이 빠르므로 사용에 유리하다.

- 1) 다양한 기질(substrate)의 이용 : 다양한 기질의 이용이 가능하여 공업적 생산이나 환경적인 측면에서 미생물 이용이 효과적일 수 있다.
- 2) 반응의 특이성(specificity) : 미생물 특유의 생리적 활성으로 화학공정을 통한 화학합성보다

비교적 쉽게 생산물을 얻을 수 있다.

- 3) 빠른 증식성: 한 세대(generation)가 약 30분에서 수 시간 안에 분열을 함으로써 빠른 증식이 가능한데 이는 단위시설에 대한 생산성(productivity)이 중요시되는 공업에서 대단히 유리하다.
- 4) 변이주(mutant)를 인공적으로 만들기 용이: 유용한 미생물 변이주 육성이 유전자 조작을 통하여 가능하다.
- 5) 생화학적 반응: 화학공정과 달리 상온과 상압에서 반응이 진행되어 효율면에서 유리하다.

이외에도 다양한 부산물이 다른 목적으로 재사용이 가능하고 미생물배양시 방출되는 열을 이용할 수 있으며 몇 단계의 화학반응을 단일반응과 같은 조작으로 달성할 수 있는 장점이 있다.

5.2.2 미생물 이용의 단점

미생물을 이용한 생산공정이 화학공정에 비해 갖는 두드러진 단점은 무엇보다도 오염의 문제이다. 왜냐하면 목적하는 생성물을 만들어 내는 균주 이외의 오염균의 침입은 전 공정을 무효화하는데, 공기, 물, 흙 등 도처에 이러한 오염균이 존재하기 때문이다.

- 1) 오염문제: 철저한 관리로 잡균이나 파아지(phage)에 의한 오염을 방지하고 항상 최적의 배양 조건을 유지하여야 한다.
- 2) 생산물 분리정제의 어려움: 배양액 중에 다양한 성분이 있으므로 특정 산물의 정제(purification)에 적합한 방법을 강구하여야 한다.
- 3) 균주의 변이: 종균(inoculum)을 연속적으로 사용할 경우 자연적인 돌연변이에 의해 성질이 변할 수 있다.
- 4) 반응 최적화의 어려움: 미생물반응은 시시각각으로 변하여 최적화(optimization)가 어려워 자동 제어에 의한 방법이 강구된다.

5.3 미생물을 이용한 산업분야

미생물을 이용한 발효산업이 주류 및 발효식품 분야에는 예전부터 이용되었다. 근래에는 의약품 및 각종 고부가가치 생산물을 얻기 위하여 여러 분야로 발효산업의 발전 폭이 넓어지고 있다.

표 5.1 미생물을 이용한 산업분야

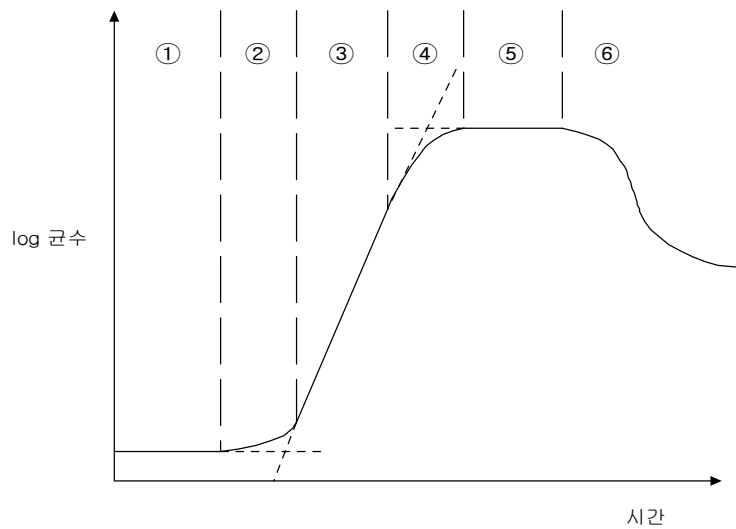
분 야	생 산 물
알코올 제조 및 주류	포도주, 맥주, 소주, 주류용 주정
발효식품	간장, 된장, 김치, 빵효모, 치즈, 요구르트
의약	penicillin, streptomycin 등
아미노산 발효공업	라이신(lysine)과 같은 각종 아미노산
효소산업	amylase, protease 등
생리활성물질	비타민류, 호르몬
균체제조업	효모균체 생산(single cell protein, SCP)
기타 분야	미생물에 의한 환경정화, 대체에너지(알코올, 메탄, 수소)의 생산 등

5.4 미생물의 생육속도론

미생물을 특정 배양조건(culture condition)에서 배양하는 경우 시간에 따른 균체농도(cell concentration)의 증가 및 배양액 중의 기질(탄소원, 질소원, 인 등) 감소 등을 정량화하여 표현함으로써 배양과정을 속도론(kinetics)적으로 해석할 수 있다.

5.4.1 증식속도(growth rate)

미생물을 회분식으로 증식시킬 경우 시간에 따른 균체의 변화를 보면 다음과 같다.



① 지연기, ② 가속생장기, ③ 지수생장기, ④ 감속생장기, ⑤ 정지기, ⑥ 사멸기

그림 5.1 미생물의 성장곡선

대수증식기의 균체 증가가 전체 성장의 핵심부분에 해당되므로 대수증식기 동안의 세포 증식에 관하여 수식으로 표현하면 다음과 같다.

$$N = N_0 \times 2^n \quad (5.1)$$

여기서

N : n 세대 후의 세포 수, N_0 : 최초의 세포 수, n : 세대 수

그러나 배지 중의 영양물질의 소모, 세포 성장을 저해하는 대사산물의 축적 등으로 인하여 이와 같은 대수증식기를 오래 지속시킬 수는 없다. 이 문제를 부분적으로 해결하기 위해서는 유가식(fed-batch) 배양에 의해 배지를 일부 제거하고 새로운 배지를 조금씩 추가함으로써 세포 성장을 지속시킬 수 있다.

5.4.2 비증식속도(specific growth rate)

단위시간당 배양조건의 효율을 나타내는 것으로 세포의 비증식속도를 사용한다. 시간 t 에 대한 균체량 X 의 평균변화율, 즉 미소시간 dt 동안에 증식하는 균체량 dX 는 그 시점에 존재하는 균체량 X 에 정비례한다고 생각하면 다음 식으로 표시된다.

$$\frac{dX}{dt} \equiv \mu X \quad (5.2)$$

또는

$$\mu \equiv \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \quad (5.3)$$

여기서

μ : 비증식속도(h^{-1})

X : 균체량(건조균체량 또는 흡광도로 표시)

t : 시간(h)

예를 들어, 비증식속도(μ)가 $0.1 h^{-1}$ 이면 시간당 10% 증식함을 의미하며 비증식속도 값이 클수록 증식속도가 크다. 이 비증식속도는 미생물의 경우 대개 $0.2 \sim 1.0 h^{-1}$ 이다. 이것은 다음 절에서 설명되는 증배시간이 대개 30분에서 수시간 이내인 것과 연관된다.

5.4.3 증배시간(doubling time)

미생물을 배양하여 원래 균체량의 2배가 되는 시간을 증배시간(t_d)이라 하고 비증식속도에 관한 식 (5.3)을 적분하여 증배시간을 알아낼 수 있다.

식 (5.3)을 적분하기 위하여 변형하면

$$\frac{dX}{X} = \mu dt, \quad t = 0 \text{ 일 때 } X = X_0 \quad (5.4)$$

식 (5.4)를 적분하면

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu t \quad (5.5)$$

여기서 X : 시간 t 에서의 균체량

X_0 : $t=0$ 에서의 균체량

식 (5.5)에서 미생물의 질량이 두 배로 증가하면 좌변은 $\ln 2$ 이므로

$$\ln 2 = \mu t_d \quad (5.6)$$

t_d : 세포의 증배시간

$$\therefore t_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0.693}{\mu} \quad (5.7)$$

식 (5.7)에서 세포의 증배시간은 비증식속도에 의해서 결정됨을 알 수 있다. 그리고 미생물의 경우 증배시간은 대개 30분에서 수 시간 이내이다. 대수생장 기간에는 X 를 시간에 대하여 반로 그 플롯(semilogarithm plot)을 했을 때 직선이 되며 이때 그 직선의 기울기가 비증식속도이다.

5.5 미생물의 영양과 배지

미생물은 생장을 위하여 무기 또는 유기 영양물질을 섭취해서 에너지원으로 이용하거나 세포 구성 성분을 합성한다. 대표적인 영양원으로 탄소원, 질소원, 미량 영양소 또는 비타민과 같은 생육인자, 그리고 에너지원 등으로 나눌 수 있다. 무기원소 중 P, S, Mg 및 K는 비교적 다량이 필요하고, Ca, Mn, Co, Cu, Zn 등이 미량금속 원소로서 요구된다. 그리고 비타민류, 핵산 등과 같은 생육인자는 단순히 증식촉진 효과뿐만 아니라 대사조절 물질로서 생산물의 양에 영향을 미치는 경우가 있어서 최적의 농도로 조절할 필요가 있다. 세포가 필요로 하는 영양소에 대해서는 제1장에 자세히 설명되어 있다.

가장 흔히 사용되는 실험실용 배지에는 Beef Extract medium, Corn Steep Liquor medium, Glucose-Yeast Extract medium, Mineral Salt Agar medium 등이 있다. 이 중에 Glucose-Yeast Extract 배지의 조성은 다음과 같다.

Yeast extract	5.0 g
Peptone	1.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
NaCl	1.0 g
증류수	950.0 mL

Noble agar 13.0 g

이 배지의 pH를 6.8로 조정하고 121 °C에서 15분간 멸균한다. 그리고 10 %의 포도당을 별도로 멸균하여 50 mL를 가한다.

5.6 미생물의 생장온도와 pH

5.6.1 온도

미생물은 생장 가능한 온도의 범위에 따라 저온균, 중온균 및 고온균으로 분류된다. 저온균은 -10 °C 에서도 증식하는가 하면 고온균은 85 °C에서도 생장이 가능하다. 그러나 이 온도 범위는 무기 촉매에 의한 반응에서 사용하는 온도 범위에 비하여 좁으며 특히 고온 부분의 온도가 일반적인 화학반응에 비하여 훨씬 낮다. 미생물의 생장속도는 가능한 온도 범위 내에서는 온도에 따라 지수적으로(exponentially) 증가한다. 이것은 세포의 대사과정에 관여하는 효소의 반응속도가 온도에 따라 지수적으로 증가하기 때문이다. 그러나 그 범위를 초과하면 생장속도는 급격히 저하되는데 그 이유는 세포를 구성하는 단백질과 세포구성 물질이 열변성(thermal degradation)되기 때문이다.

표 5.2 미생물의 증식온도

구 분	증 식 온 도 (°C)			균 주
	최 저	최 적	최 고	
저온균 (Psychrophile)	-10~0	10~20	20~30	<i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Cladosporium</i> 균종 일부
중온균 (Mesophile)	5~15	25~40	40~55	대부분의 세균, 방선균, 곰팡이, 효모
고온균 (Thermophile)	25~40	50~60	75~85	<i>Thermus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> 균종 일부, 고 온성 곰팡이

5.6.2 pH

미생물의 증식 및 대사반응에 대한 pH의 영향은 매우 크며 생산물의 생성속도에도 많은 영향을 미친다. 박테리아나 방선균은 pH 5~9, 효모나 곰팡이는 pH 1.5~9 에서 생육하지만 그 최적 pH는 각각 6.5~7.5 와 4~6 으로 알려져 있다. 그러나 *Thiobacillus thiooxidans*처럼 강한 산성인 pH 0.5~1에서 생육하거나 *Nitrobacter*, *Nitrosomonas* 등 처럼 강한 알칼리성인 pH 13 에서도 생육할 수 있는 미생물도 알려져 있다. 일반적인 박테리아라도 유산균(lactic acid bacteria)이나 초산균 등과 같이 산을 생산하는 균은 낮은 pH에 대해서 저항성이 있다. 미생물의 생장이 pH에 의존하는 것은 세포 내 효소의 활성이 pH에 따라 변하기 때문이다.

5.7 기본 발효공정

미생물의 발효공정은 다음과 같은 6가지 기본적인 단계로 구성되어 있다(그림 5.2).

- 1) 배지의 조제: 균의 증식이나 발효생산물을 만들기 위하여 필요한 각종 영양분을 용해시켜 배지를 만든다. 이때 균의 증식을 위한 배지와 발효를 위한 배지는 그 구성 성분에 차이가 있는 것이 보통이다.
- 2) 설비의 살균: 발효장비 및 배지를 살균한다. 보통 15 psi 수증기로 121 °C에서 15~30분 간 멸균하는데 멸균시간은 배지의 양이 많을수록 증가시켜야 한다.
- 3) 종균의 준비: 주발효에 사용할 종균(inoculation)을 slant나 동결건조 상태에서 취하여 플라스크 진탕배양과 소규모 종배양 발효조에서 증식시킨다.
- 4) 균의 증식: 주발효조 내에서 배양조건을 최적화하여 박테리아를 증식시킨다.
- 5) 생산물의 추출과 정제: 배양액에서 균체를 분리한다. 생성물이 세포 외부로 자연적으로 유출되는 경우에는 균체가 제거된 배양액을 분리정제하는 공정이 사용된다. 그러나 생성물이 세포 내부에 갖혀 있는 경우에는 우선 세포를 파쇄하고나서 그것으

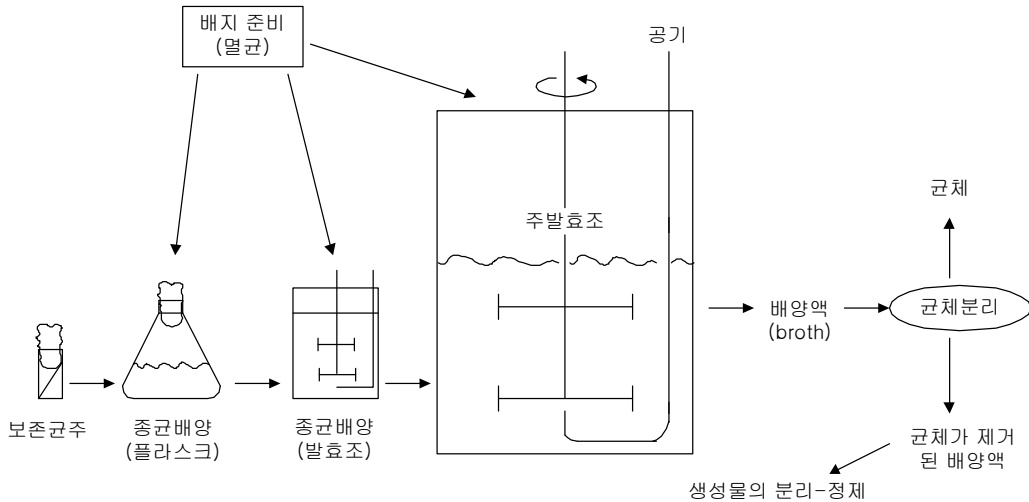


그림 5.2 세포의 생성물(extracellular product)에 대한 미생물 발효공정 단계

로부터 생성물을 분리정제해야 한다.

- 6) 발효 폐기물의 처리

5.7.1 발효시 고려사항

미생물의 배양에 있어서 제품의 생산성을 극대화하기 위하여 고려해야할 조건으로는 배지의 조성, 온도, 산소농도와 배양시간 등이 있다. 또한 생산물의 안정성, 생산물의 분리, 정제 과정 등도 고려하여 최적의 조건을 확립하여야한다.

표 5.3 미생물의 성장속도에 영향을 주는 인자

구 분	고 려 사 항
배 지	<ul style="list-style-type: none"> · 영양원의 종류와 농도 탄소원, 질소원, 무기염류, 필수영양소 등 · 물리적 성상 - 고체, 액체, 점도 · 그 외의 첨가물 - 전구물질, 소포체 등 · 경제성(저렴한 원료의 사용)
온 도	· 미생물마다 요구하는 최적온도를 사용
산 소	<ul style="list-style-type: none"> · 호기성균의 경우 - 배양기의 종류, 교반속도, 통기량, 공기의 압력 등 · 혐기성균의 경우 - 산소를 제거한다.
접 종 균	· 배양조건, 접종량
pH	· 미생물마다 요구하는 최적 pH 사용

5.8 발효공정 종류

발효공정은 발효생산물에 따라 공업적으로 다음과 같이 4가지로 나눌 수 있다.

- 1) 균체자체를 목적 생산물로 하는 경우.
- 2) 미생물이 생산하는 효소(enzyme)를 목적 생산물로 하는 경우.
- 3) 미생물의 대사산물(metabolites)을 목적 생산물로 하는 경우.
- 4) 첨가된 화학물질을 미생물이 화학적으로 변화 또는 수식(modification)해서 목적 생산물로 하는 경우.

5.8.1 균체의 생산

공업적인 균체생산은 크게 빵효모(yeast)의 생산과 사료와 식용 단백질의 생산을 목적으로 한 균체(single cell protein, SCP)의 생산이다.

5.8.2 효 소

곰팡이나 박테리아 등의 미생물을 이용한 효소의 생산은 이미 발효기술이 대부분 확립되어 있어 대규모 공업생산이 가능하다.

표 5.4 공업적으로 이용되고 있는 효소의 예

구 분	용 도	효 소	미 생 물
제빵, 제분	발효촉진, 품질개량 등	amylase	곰팡이/세균
맥 주	당화(mashing) 저온보존성(chill proofing)	amylase protease	곰팡이/세균 곰팡이/세균
의 약	소화제 각종 임상검사	protease 각종 효소	곰팡이 세균
포도주	당액의 청정화(clarification)	pectinase	곰팡이

5.8.3 미생물 대사산물

미생물 배양 중 대수증식기에 생산되는 아미노산, 핵산, 단백질, 지질, 탄수화물 등은 균의 생장에 필수적이다. 이들을 1차 대사산물(primary metabolites)이라 하는데 산업적 가치가 있는 발효생성물이다. 1차 대사산물을 생산하는 시기를 영양섭취기(trophophase)라고 부른다.

정지기(stationary phase)에 있어서 일부 미생물은 영양섭취기에 생산하지도 않으며, 미생물의 대사와 직접 관련이 없는 물질을 생산하는데, 이 물질들을 2차 대사산물(secondary metabolites)이라고 한다. 2차 대사산물을 생산하는 시기를 특이 생산기(idiophase)라 한다.

미생물의 생명유지에 필요한 대사를 1차 대사라 하고, 이 대사에 의하여 생산되는 물질을 1차 대사산물이라고 한다. 2차 대사산물은 1차 대사산물이나 그 중간체로 부터 생산된다.

5.9 미생물배양법

미생물배양은 배지의 형태에 따라 액체배양과 고체배양으로 구분된다. 또한 기질(substrate)의 공급방법에 따라 회분식배양, 연속배양 및 유가식배양이 있다.

5.9.1 액체배양

액체배양에는 산소를 배지에 용해시키는 방법에 따라 표면배양과 심부배양이 있다.

표면배양

표면배양(surface culture)은 배양기 내의 배양액의 부피에 비하여 공기와 접촉하는 표면적을 크게 하고 깊이는 낮게 하여 기액계면(gas-liquid interface)에서 액체쪽으로는 산소이동을 증가시켜 산소를 미생물에 공급하는 방법이다. 액체의 표면에서 미생물을 번식시키는 방법으로서 미생물의 막이 항상 공기와 접촉되어 있어 액체 표면에서 용해된 용존산소를 잘 이용할 수 있다. 표면배양은 배지를 교반하거나 공기를 스파징하지 않는다. 전형적인 예는 초산발효이다.

심부배양

심부배양(submerged culture)이란 공기를 강제적으로 발효조의 아래로부터 스파징시키고 동시에 교반하여 공기를 미립화하여 산소용해율 촉진시키는 배양법이다. 배지 상부의 표면을 통한 자연확산에 의한 산소용해보다 더 많은 양의 산소가 배지 중에 전달될 수 있다. 이 방법은 배양액에 존재하는 미생물을 균일하게 분산시키며, 열 이동을 촉진하고, pH 조절이 용이하며, 배양기 내의 배지농도를 균일하게 유지하는 데 유리하다(그림 5.3).

5.9.2 고체배양

고체배양법은 적당한 수분을 가지는 고체기질의 표면에 미생물을 직접 배양하는 방법

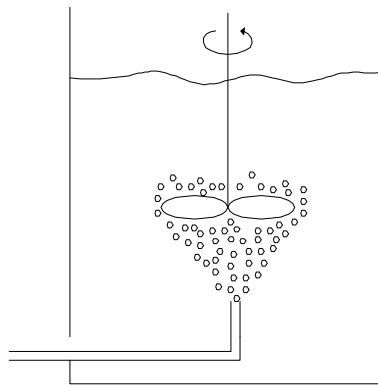


그림 5.3 심부배양 발효조

이다. 실험실에서는 주로 한천 고체배지를 사용하지만 대규모 공정에서는 농산물이나 그 폐기물을 이용한다. 수분함량이 적절히 낮으면 박테리아의 생장은 억제하고 유용한 곰팡이를 우선적으로 생육시킬 수 있다. 공업적으로 양조식품 공업이나 여러 가지 가수분해효소의 생산에 이용된다.

5.9.3 기질의 공급방법에 따른 배양법

액체배양은 기질의 공급방법에 따라 회분식배양, 연속배양 및 유가식배양으로 분류된다.

회분식배양(batch culture)

회분식배양은 처음 공급한 원료기질이 모두 소비될 때까지 발효를 계속하는 방법이며 기질의 농도, 대사생성물의 농도, 균체의 농도 등이 시간에 따라 계속 변화한다. 그럼에도 불구하고 그 조작의 간편성 때문에 대부분의 발효공업이 회분식 배양 형식을 택하고 있다.

회분식배양에서는 적당량의 배지를 넣은 플라스크에 종균을 배양하여 주 발효조(fermentor)로 옮긴 후 균의 증식과 목적물의 발효생산에 최적인 발효조건을 유지하면서 배양한다(그림 5.4).

연속배양(continuous culture)

연속배양은 신선한 배지를 일정한 속도로 발효조로 공급하면서 동시에 같은 양의 발효배양액을 배출시켜 발효조 내의 배양액을 항상 일정하게 유지하면서 발효하는 방법이다. 연속배양에서는 기질농도, 용존산소의 농도, 대사생성물의 농도, pH 등의 환경조건이 항상 일정하게 유지되기 때문에 증식속도를 임의로 조절할 수 있는 것이 특징이다.

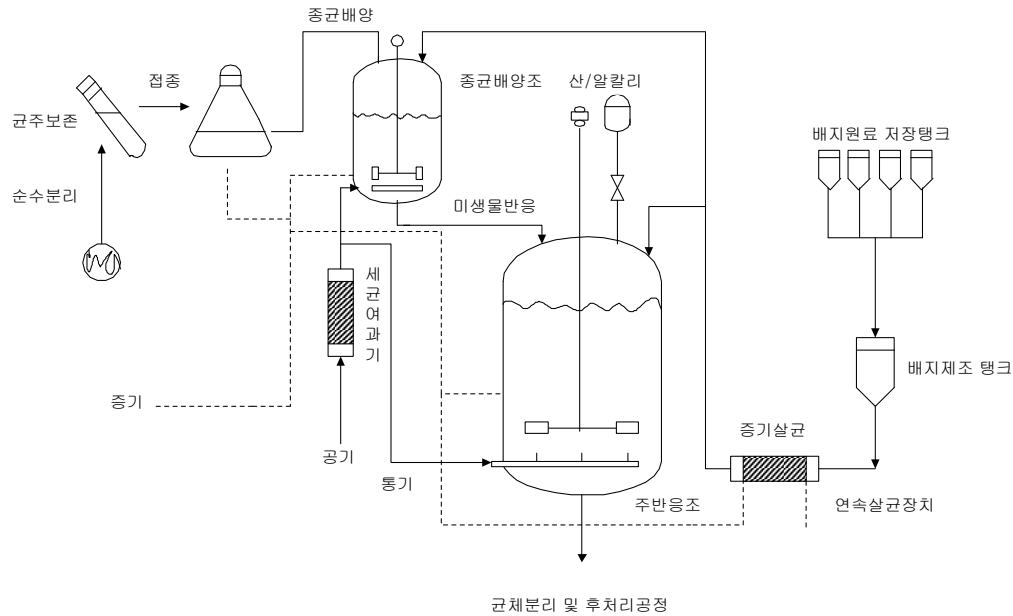


그림 5.4 회분식배양의 전형적인 미생물반응 공정도

연속 배양용 발효조는 키모스탯(chemostat)이나 터비도스탯(turbidostat)을 사용한다(그림 5.5). 키모스탯은 기질농도, 생산물의 농도, pH 등 배양액 중의 모든 환경인자를 일정하게 유지하는 발효방법이다. 터비도스탯은 배양액 중의 균체농도가 일정하게 유지되도록 배지공급 및 배출속도를 제어하는 방법이다. 분광광도계(spectrophotometer)로 배양액의 탁도(turbidity)를 측정하여 균체농도를 일정하게 유지한다. 연속배양시 희석률(dilution rate)이란 발효조에 유입되는 배지의 유속을 배양액 단위부피에 대해 나타낸 것으로 단위부

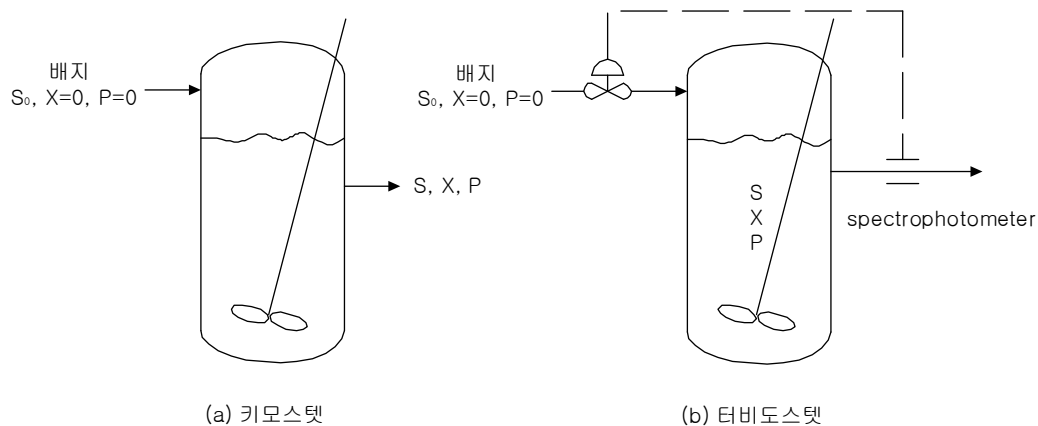


그림 5.5 연속 발효공정 모식도

피에 대한 유입속도를 희석률로 정의한다.

즉,

$$D = \frac{F}{V} \quad (5.8)$$

D : 희석률(hr^{-1})

F : 배지의 유입속도(flow rate)

V : 배양액량(culture volume)

단위시간에 키모스탯에 대한 균농도의 변화량에 대해 식을 세우면

$$\frac{dx}{dt} = \text{생육량(growth)} - \text{유출량(output)} \quad (5.9)$$

$$\frac{dx}{dt} = (\mu - D) x \quad (5.10)$$

정상상태(steady state)에서는 시간에 따른 미생물농도의 변화가 없으므로, $dx/dt=0$ 이며

$$\mu x = Dx \quad (5.11)$$

$$\therefore \boxed{\mu = D} \quad (5.12)$$

즉, 비증식속도(specific growth rate, μ)가 희석률과 같다. 그러므로 연속배양이 정상상태에 도달하면 비증식속도는 희석률에 의하여 정해진다.

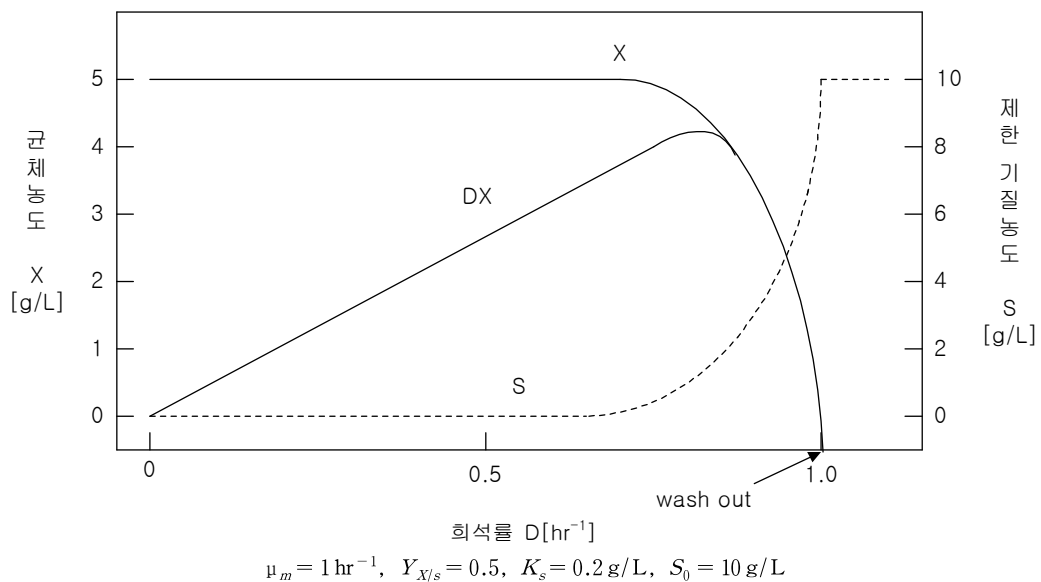


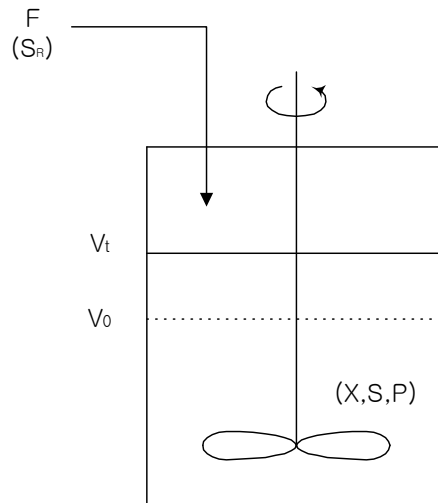
그림 5.6 키모스탯에서 희석률과 균체농도(X), 기질농도(S)의 관계

유가식배양(fed-batch culture)

회분배양은 발효가 일단 시작되면 배지를 추가하지도 제거하지도 않는다. 연속배양은 배지를 연속적으로 공급하고 또한 제거한다. 그러나 유가식 배양이란 배지를 간헐적으로 공급하는 배양법으로서 배양액 중의 기질농도를 임의로 제어할 수 있다. 그리고 기질은 적당한 속도로 첨가되며 유출이 없기 때문에 공급되는 기질의 양과 미생물에 의한 소비량 사이에 균형을 유지함으로써 기질을 자유롭게 제어할 수 있다. 유가식배양에서 배양시간에 따른 배양액의 부피, 균체농도 등의 변화를 그림 5.7에 나타내었다. 유가식배양에 대한 자세한 사항은 9장에 상세히 설명되어 있다.

유가식 배양은 다음과 같은 경우에 유용하다.

- 1) 기질이 비교적 낮은 농도에서 세포의 성장을 저해하는 경우.
- 2) 특정 기질의 농도가 높아지면 목적생산물의 생성이 억제되는 경우.
- 3) 영양요구성주(auxotroph)의 배양에서 특정 요구물질의 첨가가 필요한 경우.



F : 신선한 배지의 유입속도, P : 생산물 농도, S : 잔존 기질농도,
 S_R : 유입배지 중의 기질농도, V : 배양액의 부피, X : 균체농도

그림 5.7 유가식배양법

5.10 배 지

배지는 균주증식 및 발효생성물의 생산에 효과적이어야 하며, 발효공정에 가장 적합한 배지를 확립하기 위하여 다음과 같은 사항을 고려하여야 한다.

- 1) 경제성을 고려할 것.
- 2) 단위 기질소비량에 대하여 최대의 생산물 또는 균체 수율을 얻을 수 있을 것.

- 3) 생산물의 생성속도가 최대일 것.
- 4) 부산물의 생성이 적을 것.
- 5) 품질에 일관성이 있고 년중 구입이 가능할 것.
- 6) 통기, 교반, 추출, 정제, 폐기물 처리 등의 문제가 적을 것.

5.11 발효조

미생물을 공업적으로 이용하기 위하여 대량으로 배양시킬 필요가 있으며 이러한 목적으로 사용되는 장치가 발효조(bioreactor)이다. 발효조 제작시 고려사항으로 장시간의 무균유지가 가능하고, 소비동력이 낮으며, 온도제어 및 pH 조절이 가능하고, 유지 보수 등이 용이해야 한다.

5.11.1 발효조의 종류

발효조에는 통기교반형 발효조, 기포탑형 발효조, 유동층 발효조 등이 있다.

통기 교반형 발효조(stirred tank reactor)

원통형의 탱크에 교반기(agitator), 방해판(baffle plate), 공기분산 유입관(air sparger), 냉각 및 가열장치 등으로 구성된 표준형 발효조 장치가 가장 널리 사용되고 있다. 발효조에는 pH 전극, 거품제거제 투입구, 용존산소(dissolved oxygen) 농도측정전극 삽입구, 온도계 삽입구, 시료채취구, 배지 주입구 등이 설치되어 있다(그림 5.8). 이 발효조는 회분배양에 사용하며 약간의 개조를 통해 연속배양도 가능하다. 이상은 호기성 발효(aerobic fermentation)를 위해 필요한 발효조 내 구성 요소이며 혐기성 발효(anaerobic fermentation)를 수행할 경우에는 공기분산 유입관의 작동을 중지시키고 배지를 만드는 과정에서 산소를 제거한다. 경우에 따라서는 배지의 산화 환원전위를 조정하여야 한다.

통기교반형 발효조는 발효 산업에서 가장 광범위하게 사용되는 발효조로써 미생물뿐만 아니라 동물세포 및 식물세포의 배양에 사용할 수 있다. 또한 호기성 발효 및 혐기성 발효에 공통으로 사용이 가능하다. 이 발효기는 기계적으로 교반한다. 교반과 아울러 폭기(aeration)를 하여 세포를 부유시키고 산소를 공급하며, 배지를 혼합시켜 배지 내의 열전달을 효과적으로 이루어지게 한다.

통기교반형 발효조를 동물세포나 식물세포 배양에 사용할 때에는 교반에 따른 전단력을 작게 하는 것이 중요하다. 미생물 배양에 일반적으로 사용하는 평판 디스크터빈(flat-bladed, disk turbine)은 전단력이 높기 때문에 사용하기 부적절하며, 교반 날개의 폭

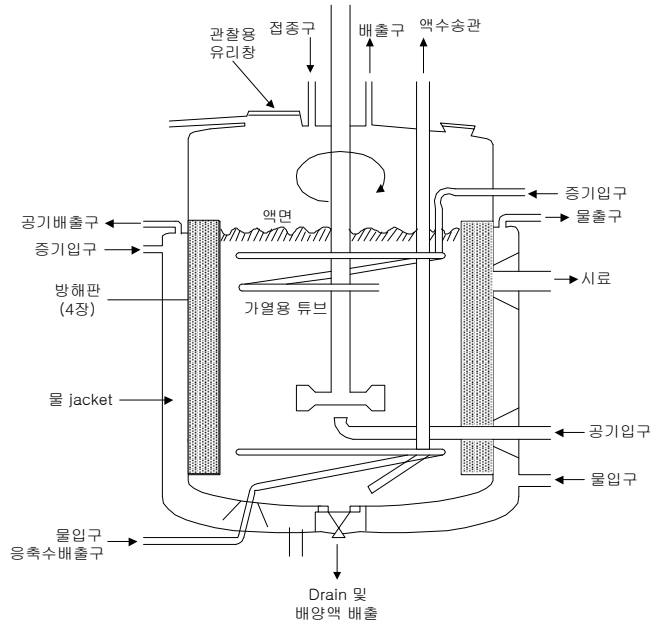


그림 5.8 통기교반형 발효조(좌), 통기교반조의 표준치수(우)

과 지름의 비를 증가시켜 속도 프로필이 더 무디어지게 하여 전단력을 낮게 한다.

기포탑형 발효조(air-lift fermenter)

산소 공급이 필요한 호기적 배양에 사용되는 발효조로서 공기방울을 작게 부수는 기계적 교반을 하지 않고 그림 5.9처럼 원통형의 발효조 내에 공기를 아래로부터 공급하여

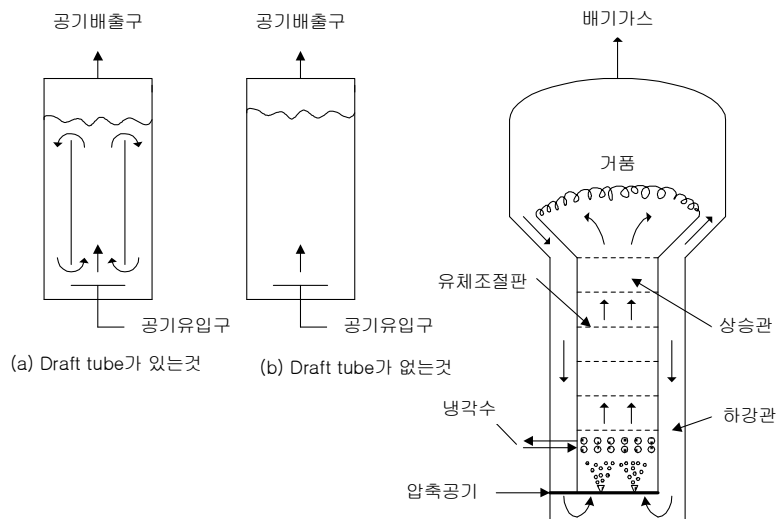


그림 5.9 기포탑형 발효조의 기본형식

자연대류를 발생시킨다. (a)는 기포탑형 발효조의 기본이 되는 형으로 발효조 내부에 draft tube를 설치하여 기포가 튜브 안쪽으로 상승하다가 액체의 정상 부근에서 튜브의 외측을 따라

하강하는 자연대류(natural convection)를 일으킨다. (b)는 간단한 형으로 활성오니 처리에 이용하는 폭기조(aeration tank)와 같이 발효조 하부에서 공기를 불어 넣어주는 것이다.

기포탑형 발효조는 기계적 교반을 하지 않으므로 동력소비가 경감되는 반면 점도가 높은 경우 사용하기가 어렵다. 기포탑형 발효조는 구조가 간단하여 대형화가 용이하며, 기계적 교반시 발생하는 전단력(shear force)이 나쁜 영향을 주는 세포배양에 사용하면 유용하다.

세포농도가 증가됨에 따라 세포 현탁액의 혼합을 유지하는 데 높은 공기유속이 요구된다. 그러나 공기유속을 증가시키면 과도한 거품이 발생되고 탑내에 많은 기포가 머물어 발효조의 생산성을 저하시킨다.

유동층 발효조(Fluidized bed fermenter)

유동층형의 발효조에는 응집성 효모(flocculating yeast)를 사용하는 연속 맥주양조와 고체상의 기질을 사용하는 제국장치가 있다. 연속 맥주양조에 사용되고 있는 유동층형 발효조는 응집성 효모의 덩어리가 배지의 상승운동에 의하여 현탁상태로 유지되고, 탑의 정상에 있는 침강장치에 의하여 탑 본체로 다시 돌려보내게 되므로 맑은 맥주를 얻을 수 있다.

5.12 미생물 공업의 전망

미생물을 이용한 산업은 현재 상당한 규모로 발전되었으며 앞으로 의약, 농업, 식품, 축산, 환경 분야 등에서 많은 발전이 있을 것으로 기대된다.

■ 의학분야

각종 의료용 효소나 항생제 등 고부가가치 제품생산에 커다란 진전이 예측된다.

■ 환경분야

효소를 세제에 첨가하여 사용하게 됨에 따라 효소생성을 위한 미생물 공업이 성장하였다. 농업용 폐기물을 이용한 메탄발효는 이미 몇몇 나라에서 상용화되어 있으며 농약을 화학약품으로부터 미생물농약인 Bt toxin 등으로 대체하거나 석유의 탈황에도 응용되고 있다. Bt는 *Bacillus thuringiensis* 의 약자로서 미생물의 명칭이다. 이 미생물은 toxin을 함유하고 있어 해충의 애벌레 소화기관에 침투하면 애벌레를 사멸시킬 수 있다.

■ 식량자원으로 이용

식량부족이나 단백질이 부족한 경우 이용 가능한 자원으로서 연구가 필요하다.

■ 유용미생물 균주 제조

다양한 분자생물학적 기술을 이용하여 유용한 물질 생산에 유리한 새로운 균주를 제조할 수 있다.