

5

발효공학

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 산소용해를 촉진시키는 배양법이다. 배지 상부의 표

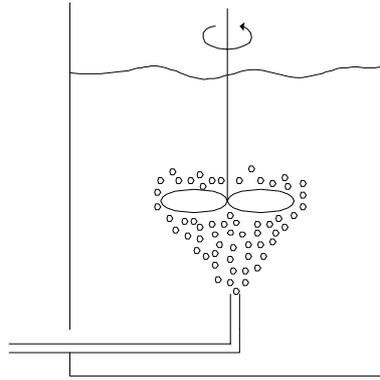


그림 5.3 침부배양 발효조

면을 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 방법이다. 실험실에서는 주로 한천 고체배지를 사용하지만 대규모 공정에서는 농산물이나 그 폐기물을 이용한다. 수분함량이 적절히 낮으면 박테리아의 생장은 억제하고 유용한 곰팡이를 우선적으로 생육시킬 수 있다. 공업적으로 고체배양법은 양조식품 공업에 있어서 각종 국(麴)을 생산하거나, 버섯재배 또는 담자균이나 곰팡이 등을 밀기울에 배양하여 각종 가수분해효소를 생산하는 데 이용한다. 청주양조에 있어서 국(麴)이란 찌쌀에 *Aspergillus oryzae*의 포자를 접종하여 30°C 정도에서 2일간 배양하여 균사가 쌀 표면으로부터 내부까지 생육하여 아밀라제(amylose) 등의 가수분해효소를 분비하게 한 것을 말한다.

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

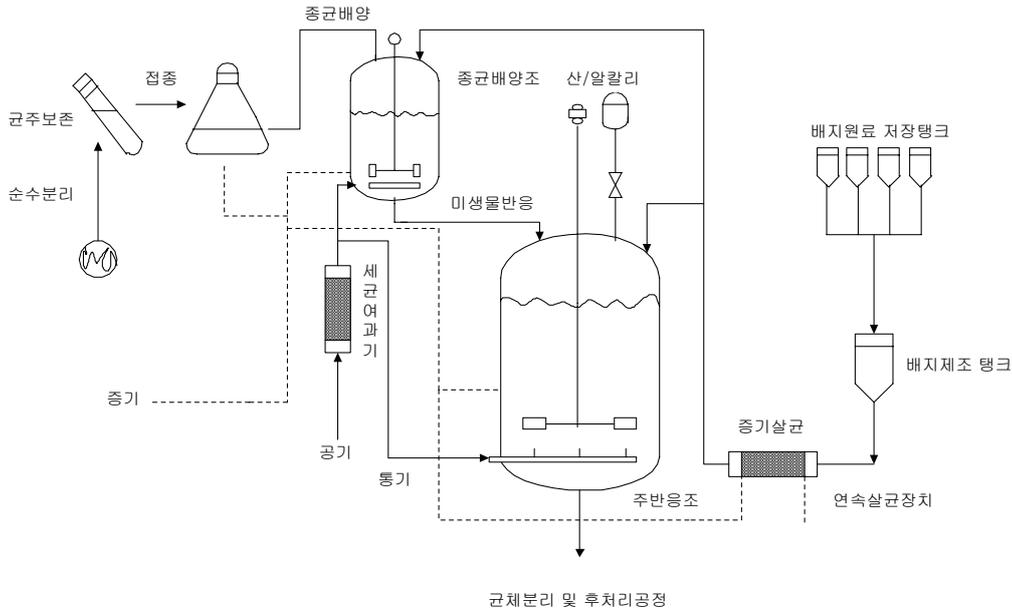


그림 5.4 회분식배양의 전형적인 미생물반응 공정도

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.

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 단위부피에 대한 유입속도를 희석률로 정의한다.

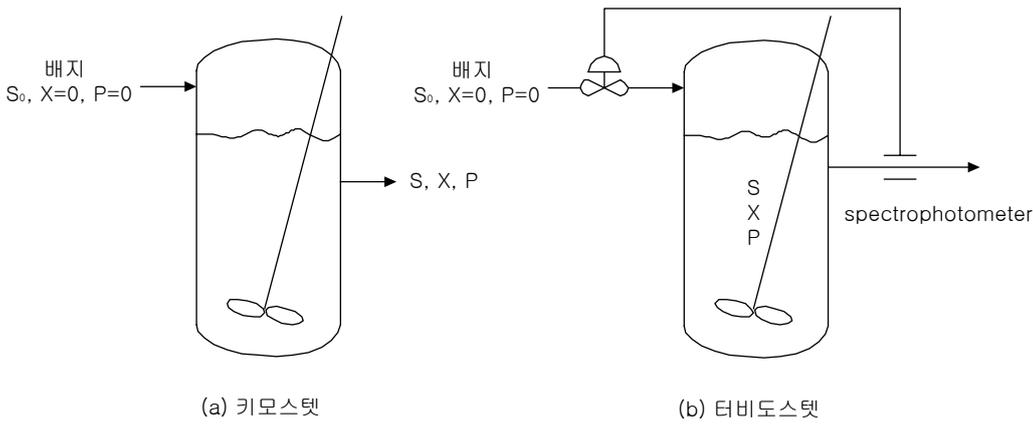


그림 5.5 연속 발효공정 모식도

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.

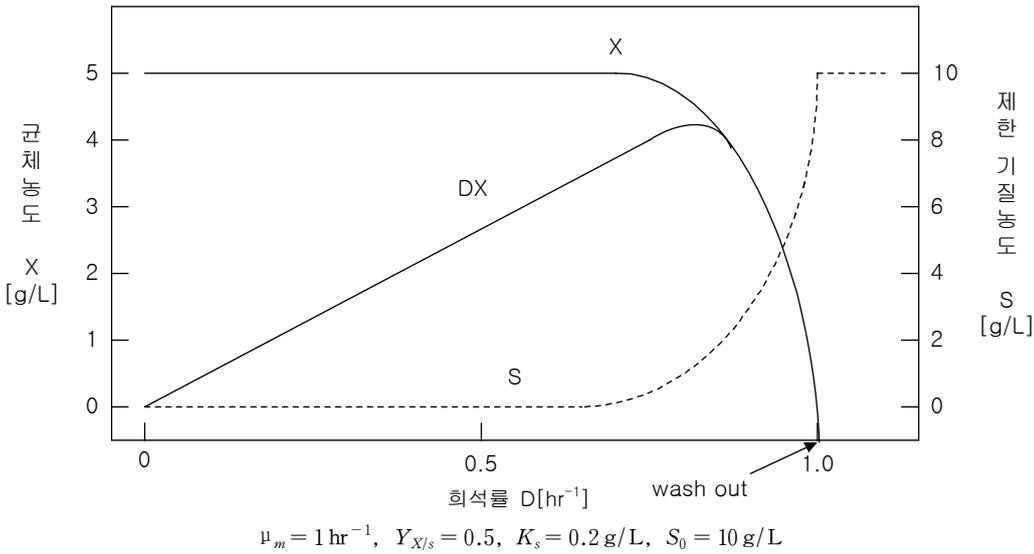
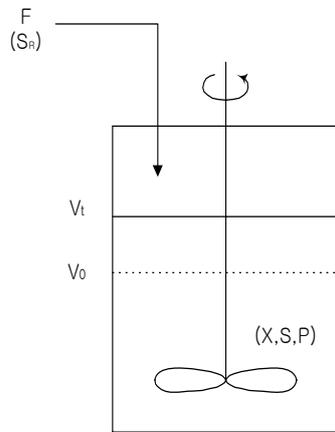


그림 5.6 키모스탯에서 희석률과 균체농도(X), 기질농도(S)의 관계

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 소비



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

그림 5.7 유가식배양법

량 사이에 균형을 유지함으로써 기질을 자유롭게 제어할 수 있다. 유가식배양에서 배양 시간에 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.