

## 회분식 발효에서의 전기투석에 의한 젖산의 동시분리

이은교 · 장용근\* · 장호남 · 김인호<sup>1</sup>

한국과학기술원 화학공학과 및 생물공정연구센터, <sup>1</sup>충남대학교 화학공학과

### *In situ* Separation of Lactic Acid by Electrodialysis in Batch Culture

Eun-Gyo Lee, Yong-Keun Chang\*, Ho-Nam Chang and In-Ho Kim<sup>1</sup>

Department of Chemical Engineering and Bio Process Engineering Research Center, KAIST

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Chungnam National University

**Abstract** — Effects of lactate concentration, temperature, counter ions, pH as well as voltage (current) in batch electrodialysis (ED) experiments with a 3-compartment unit were investigated. The applied voltage was found to be the most critical factor as expected. The electrodialysis rate increased with the lactate concentration of the source solution. The amount of lactate transferred was limited by the lactate concentration difference between cathode and permeate compartments. The electrodialysis rate did not heavily depend on temperature change. The electrodialysis rate of  $\text{NH}_4$ -lactate was faster than that of Na-lactate and both lactates showed the highest electrodialysis rate at a pH of 4.0. A little amount of non-ionic glucose diffused through the anionic membrane to the permeate compartment. To test the effectiveness of the *in situ* recovery of lactic acid from fermentation broth by ED, three cases of batch culture were carried out; pH control only, ED only, and pH control and ED. The case with both pH control and ED was more efficient than that with pH control only in the aspects of productivity and product yield.

젖산은 식품 첨가제 등 식품공업과 pH 조절용이나 수술용 봉합사 재료 등 의약품 공업에서 널리 쓰이고 있는 유기산이다(1, 2). 이는 또한 최근의 환경오염 문제와 관련하여 생분해성 고분자의 원료로서 주목을 받고 있다. 젖산 고분자인 poly(lactic acid)는 광학이성질체(L(+)) 형태와 D(-) 형태의 조성을 달리하거나  $\epsilon$ -caprolactam과의 공중합을 통해 물리적 성질과 생분해 속도가 변화될 수 있는 특성(3, 4)을 가지고 있기 때문에 그 용도가 매우 넓다.

젖산이 범용성 고분자의 원료로서 사용되기 위해서는 대량 생산과 고순도 정제가 경제적으로 이루어져야 한다. 현재 생산되고 있는 젖산은 발효에 의한 것과 합성에 의한 것 두 가지가 있다. 합성에 의한 방법으로는 라세미 혼합물(racemic mixture)이 얻어지기 때문에 고분자 물성을 자유롭게 조절하기에 부적합한 반면, 발효에 의한 방법은 미생물의 종류에 따라 한가지 형태의 젖산만을 얻을 수 있어 적합하다(2, 5). 그러나, 발효에 의한 젖산 생산에는 두 가지

문제가 존재하는데, 생성물 저해로 인해 고농도로 젖산을 생산할 수 없다는 점과 고순도 정제가 어렵다는 점이다. 발효 문제와 정제 문제는 서로 밀접히 연관되어 있어서, 발효 공정의 효율 향상과 생성물의 분리 정제 효과를 동시에 거둘 수 있는 방안을 강구하는 것이 바람직하다.

전기투석은 전위차와 이온 선택성막을 이용하여 전해질이나 이온들을 분리하는 공정으로 염의 제거, pH 조절, 전기 영동과 이온 교환 공정을 위한 원료의 전처리, 단백질 분리, 이온 성분의 정제 등에 이용되고 있다(5, 6). 전기투석(electrodialysis)을 젖산 발효와 연계하여 사용하면, 젖산 발효시의 가장 큰 문제점인 생성물 저해를 줄이는 동시에 생산된 젖산을 발효 배지로부터 분리하고 농축하는 효과를 가져올 수 있다(7-9).

본 연구에서는 젖산을 전기투석을 통해 분리하는데 있어서 전기투석속도 및 효율에 영향을 주는 여러 가지 인자 즉 전압(전류), 젖산 농도, pH, 젖산염의 종류 등의 영향을 알아보았다. 여기서 젖산염의 종류는 젖산기와 결합된 양이온(예:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^{++}$ )의 종류에 따라 달라진다. 이때의 양이온을 젖산기와 반

**Key words:** Electrodialysis, lactic acid, *in situ* recovery

\*Corresponding author

대되는 전하를 갖는다고 하여 반대이온(counter ion)이라 부른다. 앞의 전기투석실험을 바탕으로 회분식 젖산 발효시 전기투석을 이용하여 젖산을 배양액으로부터 *in situ*로 분리할 경우 얻어지는 생산성 향상 효과도 검토하였다.

재료 및 방법

전기투석장치

전력은 DC power supply를 사용하여 공급하였으며, 양극 전극으로는 백금망을, 음극 전극으로는 스테인레스망(전극 면적 : 72.25 cm<sup>2</sup>)을 사용하였다. 양이온 교환막으로는 일본 Tokuyama Co.의 Neosepta CMX(m.w.c.o. : 300~500, 유효 막면적 : 100 cm<sup>2</sup>)를, 음이온 교환막으로는 Neosepta AFN와 AMX(CMX와 동일)를 사용하였다. 사용된 전기투석장치의 구조는 양극, 침투물, 음극 격실 등 3격실로 이루어져 있다(Fig. 1).

사용균주 및 배지

균주로는 L-젖산을 생산하는 *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus*(ATCC 10863)를 사용하였다. Seed

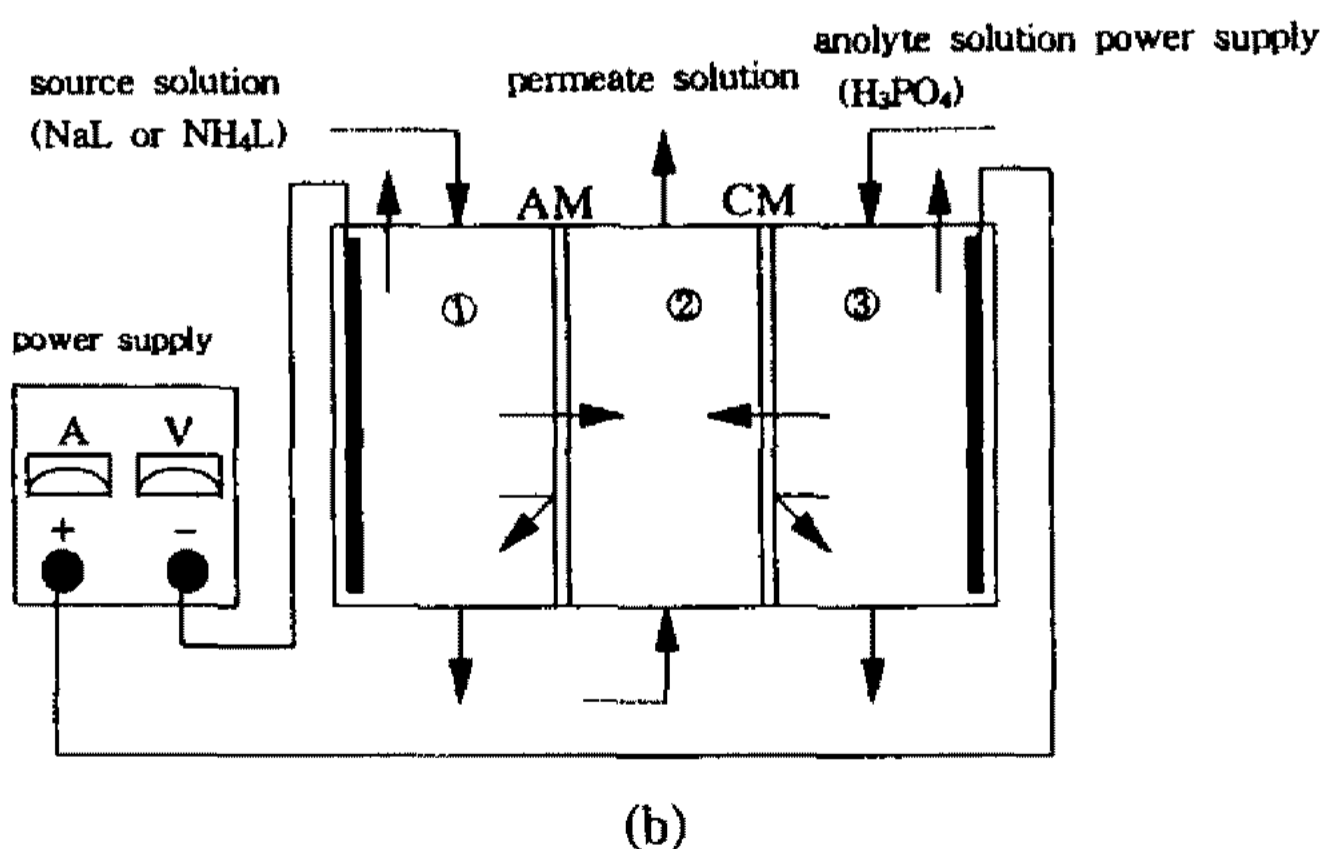
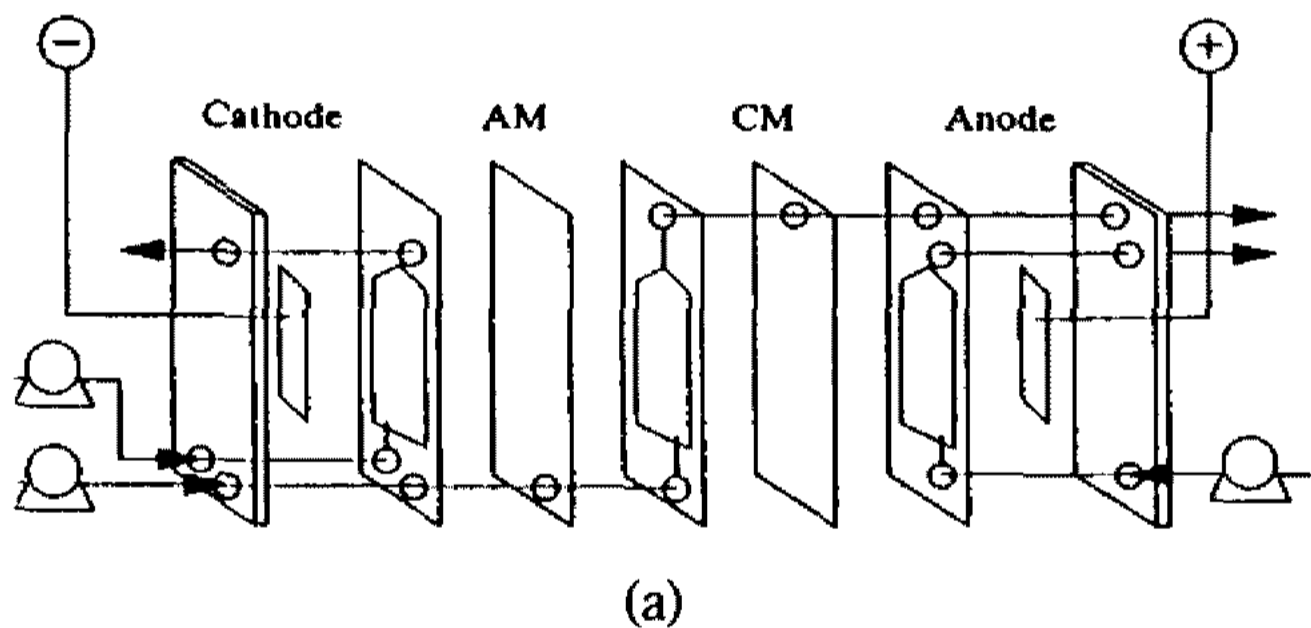


Fig. 1. Electrodesis unit. (Received 199)  
 a) Detailed structure of electrodesis unit  
 b) Principle of electrodesis  
 ① anode compartment, ② permeate compartment, ③ cathode compartment

culture를 위한 배지로는 MRS 배지를 사용하였고 (2), 회분식 발효를 위해서는 다음과 같은 배지 조성 (g/l)을 사용하였다. Glucose ca 50/150, yeast extract 15, CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O 1, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.05, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.03.

분석

균체 농도는 620 nm에서 optical density를 측정하여 표준선도로부터 구하였다. 포도당 농도측정을 위해서 영동제약의 Glucose-E kit을 사용하였고, 젖산 농도측정을 위해서는 HPLC(Aminex HPX-87H)를 이용하였다.

회분식 전기투석 실험

모든 전기투석실험은 정전압하에서 회분식으로 실행하였다. 젖산염 종류 및 pH의 영향을 알아보는 실험을 제외한 모든 전기투석 실험에서, 음극 격실로 순환되는 source solution으로는 PURAC(Spain)에서 구입한 순수 젖산을 희석(0.25~0.3 M)하여 사용하였으며, 총부피는 1l였다. 젖산염 종류 및 pH의 영향을 보는 실험에서는 0.5l의 0.6 M 젖산 수용액을 NaOH, NH<sub>4</sub>OH로 pH 조절한 젖산염 형태를 source solution으로 사용하였다. 침투물 격실로는 200 ml의 3차 증류수를 순환시켰으며 양극 용액으로는 1.5N H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 수용액(부피 0.5l, 1l)을 사용하였다. 음극, 침투물, 양극 격실에서의 각 용액의 유속은 각각 105, 60, 34 ml/min이었다. 온도 효과 실험 이외의 모든 전기투석실험에서 온도는 25°C로 하였다.

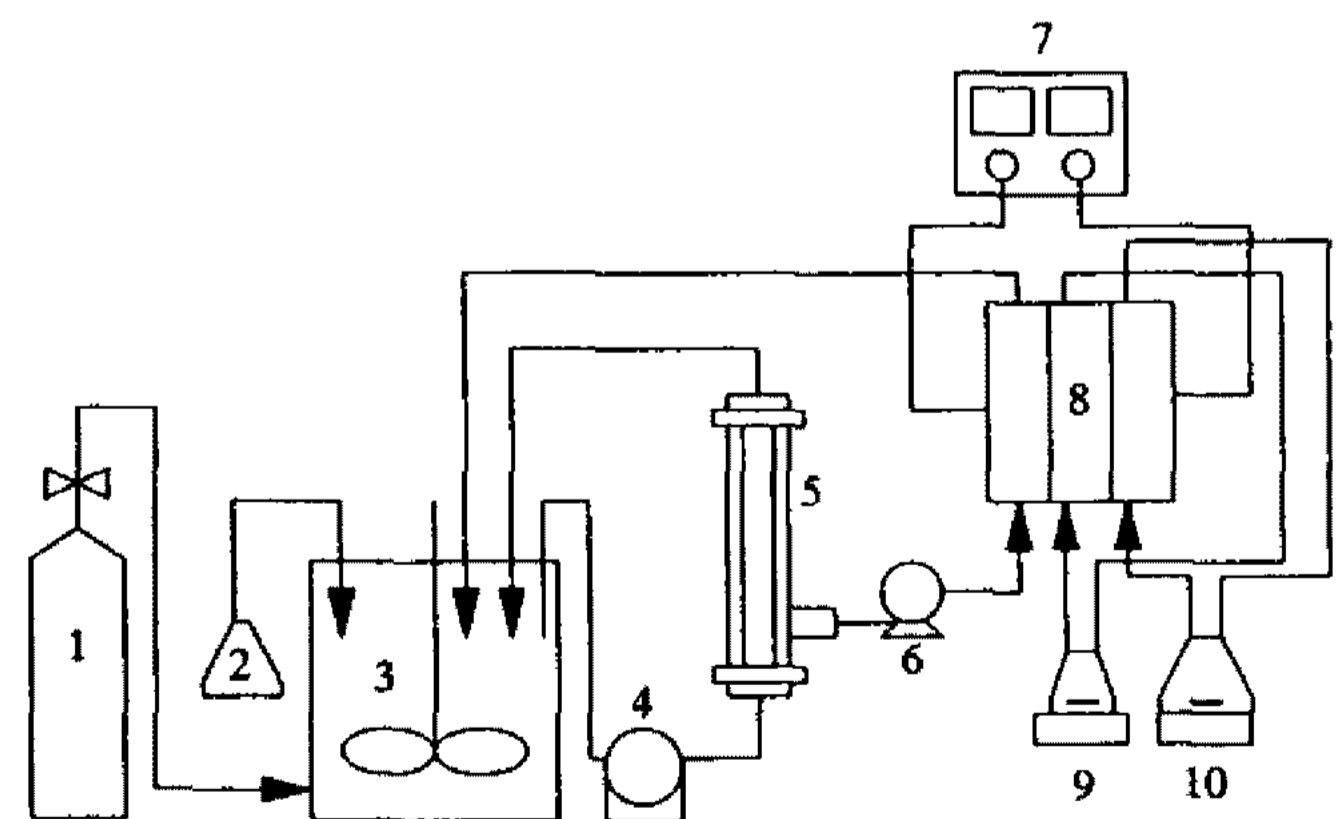


Fig. 2. Schematic diagram of batch fermentation system with cross-flow filtration and electrodesis.  
 1. N<sub>2</sub> gas, 2. NH<sub>4</sub>OH solution, 3. fermentor, 4. diaphragm pump, 5. filtration unit, 6. peristaltic pump, 7. power supply, 8. electrodesis unit, 9. permeate solution, 10. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution

**회분식 전기투석-발효 실험**

사용된 장치의 개요는 Fig. 2와 같다. 발효조 최대 부피는 2.5 l였고 조업부피는 전기투석 실험에서의 source solution 부피와 같이 1 l로 하였다. 발효는 온도 42°C, pH 6.0, 교반 속도 250 rpm의 조건하에서 실험하였고, 혐기 상태를 유지하기 위해 질소가스를 불어 넣어 주었다. 균체의 여과 및 재순환에는 기공 크기(pore size)가 0.45 μm이고 유효면적이 1300 cm<sup>2</sup>인 세라믹 필터를 이용하였다. 세라믹 필터로의 배양액 순환에는 diaphragm pump를 사용하였고, 전기투석장치 내의 각 격실로의 용액 순환에는 3개의 peristaltic pump를 사용하였다. 회분식실험 중 발효액의 필터 순환 부피는 약 350 ml였고, 순환 속도는 1.18 l/min였다. 전기투석 장치의 음극 격실로 유입되는 발효액 속도는 여과속도의 제한을 받으므로 유속을 27 ml/min 정도로 유지하였다. 세라믹 필터의 멸균을 위해서 5N NaOH를 이용하였고, 전기투석장치의 멸균을 위해서는 3.7 wt% formaldehyde 용액을 사용하였다.

**전류 효율**

Faraday's law에 따르면, lactate 1몰의 전기이동 효과를 얻기 위해서 전기투석 장치에 공급하여야 하는 전류량은 96,500 C(26.8 A·h)이다(5). n개의 cell pair가 있는 전기투석 장치에서는 이론적으로 n몰이 이동할 수 있게 되는데, 전류 효율은 실제 이동되는 전기투석량 즉 젖산 농도의 변화로부터 계산될 수 있다.

$$\eta = \frac{FV_p \Delta C}{nIt}$$

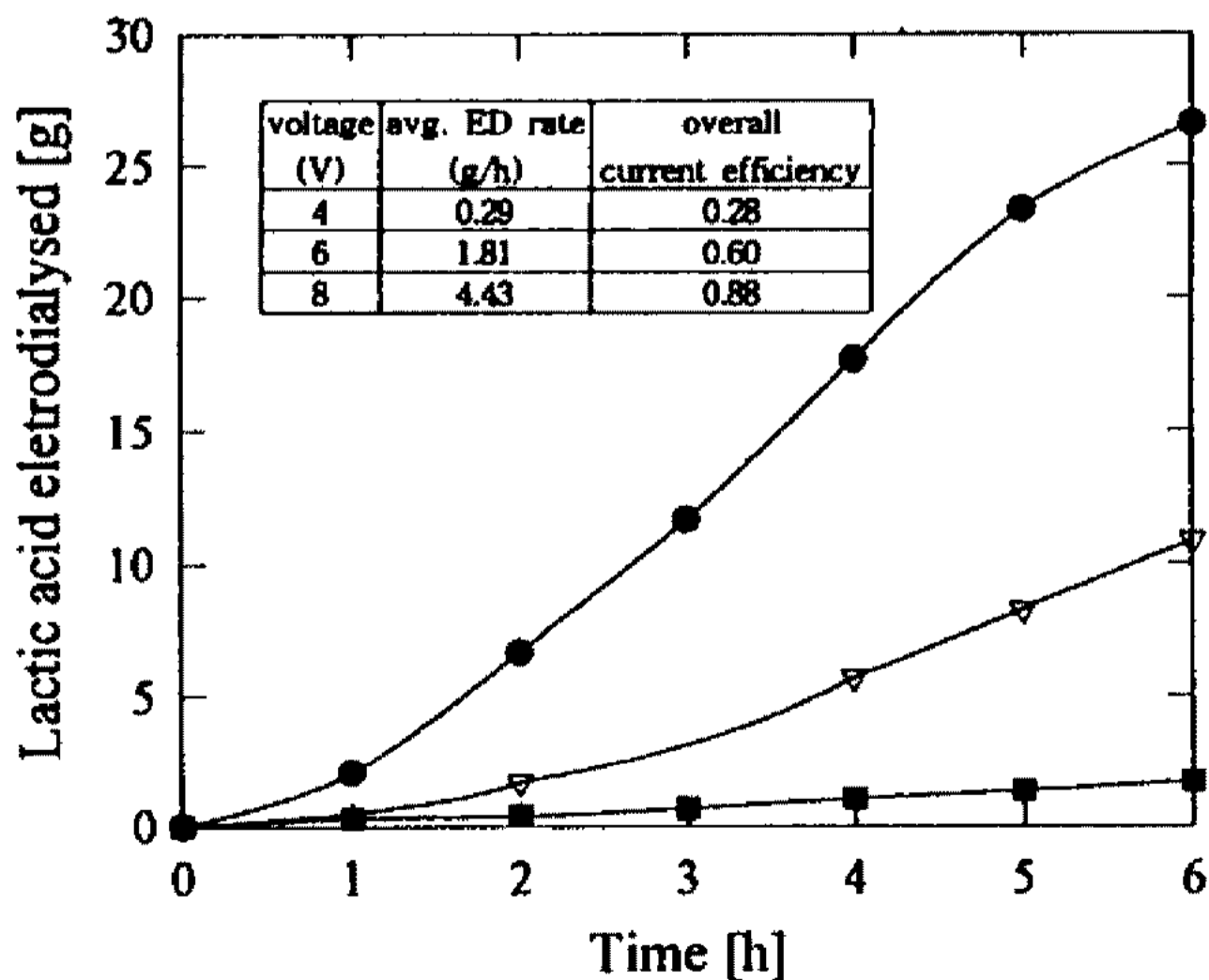


Fig. 3. Effect of voltage on lactate electrolysis. ■: 4 V, ▽: 6 V, ●: 8 V

여기서, η는 전류 효율(0≤η≤1), F는 패러데이 상수 (96,000 C/mol), V<sub>p</sub>는 침투물 용액 부피, ΔC는 침투물 용액의 농도 변화, n은 cell pair의 개수, I는 전류, t는 시간이다.

**결과 및 고찰**

**전위차에 따른 전기투석속도**

전위차에 따른 전기투석속도를 알아보기 위해 전압을 8, 6, 4 V로 변화시켜 가며 실험한 결과(Fig. 3), 각각 1.5, 0.9, 0.3 A의 전류가 흘렀다. 이때 평균 전류밀도는 각각 20.76, 12.46, 4.15 mA/cm<sup>2</sup>이었다. 이론적으로 전기투석은 전류량에 비례하는 양의 이온이 이동하여야 하지만, 실제로는 6 V 이하의 낮은 전압 하에서는 이론값보다 훨씬 적은 젖산 이온의 이동이 관찰되었다. 이때 전압에 따라 변하는 평균 전류 효율을 계산하여 보면 각각 0.88, 0.60, 0.28이었다. 낮은 전위차의 경우 전류 효율이 크게 떨어지는 현상에 대해 현재로서는 그 원인을 쉽게 설명할 수가 없으며 따라서 이에 대한 연구가 추후 필요할 것으로 생각된다.

6 V의 전위차로 전기투석을 행한 경우 시간에 따른 전류 효율 변화는 Fig. 4에서와 같이 나타났다. 전류 효율은 초기에는 0.4의 낮은 값을 보였으며 5~6시간 사이에 최대값을 보이다가 8시간 이후부터는 감소하는 경향을 보였다. 전기 투석 초기에는 순수한 증류수인 침투물 용액이 큰 저항체로 작용하기 때문에 전류 흐름량이 적을 뿐 아니라, 전극 반응으로 발생되는 기체(H<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub>)로 인해 전극의 표면적이 작아지게

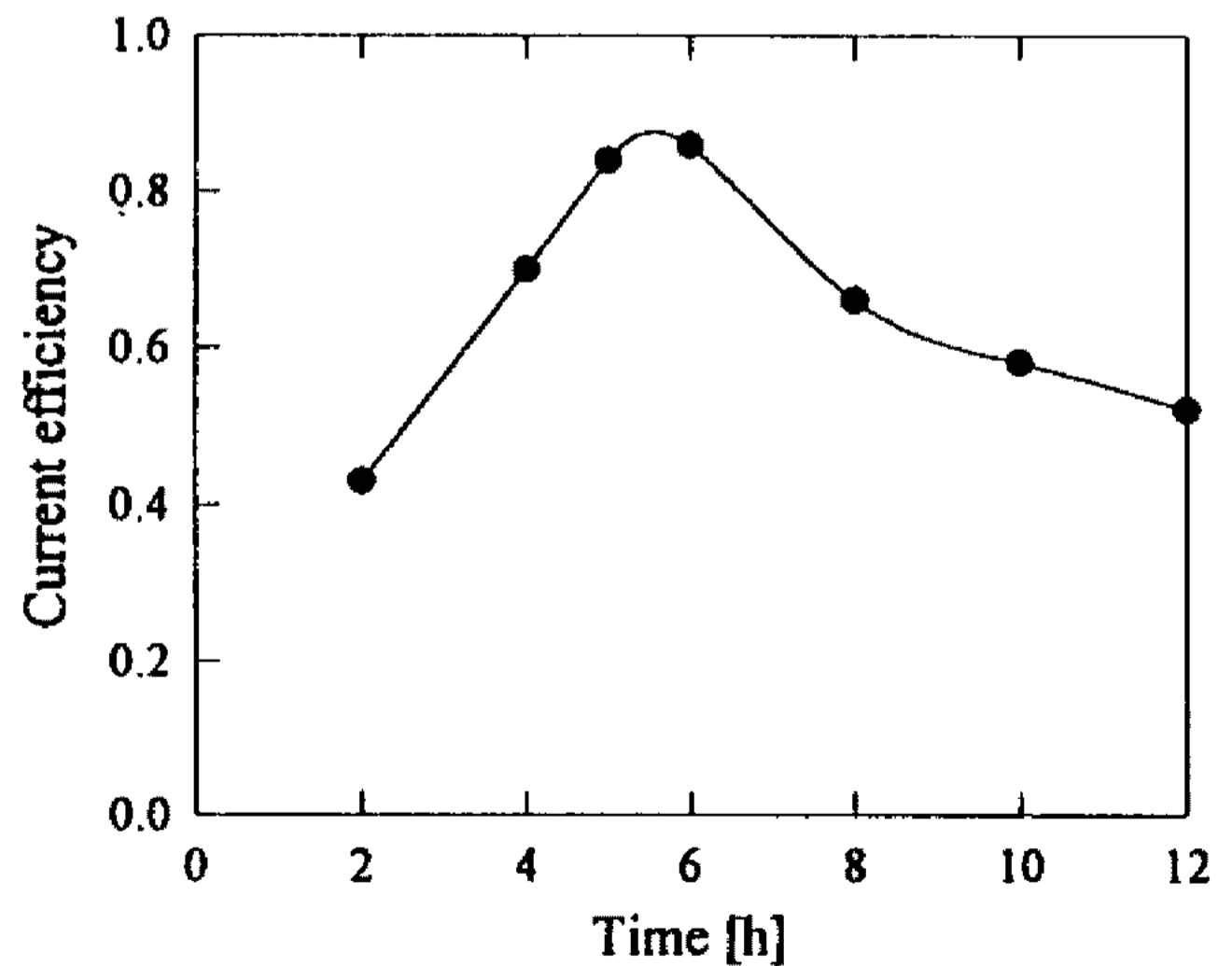


Fig. 4. Time profile of current efficiency. 6 V, permeate solution volume=200 ml, initial lactic acid concentration of source solution=0.32 M

된다. 시간이 흐름에 따라 전극 표면에 고정되어 있던 기포가 부서지며 전극 면적이 증가하게 되고 침투물 용액의 젖산량이 높아짐에 따라 전기투석장치 내의 저항도 감소하여 전류 효율도 0.9까지 상승하게 된다. 8시간 이후부터 전류 효율이 감소하는 이유는 source solution의 낮은 젖산 농도로 인한 큰 전기저항과 source solution과 침투물 용액 사이의 큰 농도차 때문인 것으로 생각된다.

전기투석이 진행됨에 따라 침투물 격실의 젖산 농도가 증가하여 음극 격실과의 농도차가 어느 이상이 되면 전압(전류)에 의한 젖산 이동과 농도차에 의한 확산(back-diffusion)이 서로 상쇄되는 상태에 도달할 것이 예상되었다(11). 즉, 농도차가 작을 때에는 정상적으로 젖산이온이 이동하지만, 농도차가 특정값(한계 농도차)에 도달하게 되면 젖산의 투석 속도가 0이 될 것이 예상되었다. 이러한 현상을 확인하기 위하여 일종의 평형 실험을 행하였다. 침투물 용액의 초기 농도를 154 g/l가 되도록 하고, 음극 용액의 젖산 농도는 72 g/l로 하여 전압 6 V에서 실험하였다(Fig. 5). 두 격실용액의 초기 농도차가 82 g/l였지만 14시간 후에는 130 g/l에 도달하였고 더 이상 침투물 부분의 농도가 증가되지 않는 것이 관찰되었다. 이때 7 V로 전압을 상승시키면 이 평형이 깨지고 새로운 농도 평형(농도차 170 g/l)으로 이동함도 알 수 있었다. 이러한 현상은 젖산 정제시 농축비를 제한하는 요소가 되므로 이를 최소화하기 위해서는 젖산 이온에 대한 확산계수가 낮은 막의 선택이 중요하게 된다.

### 농도의 영향

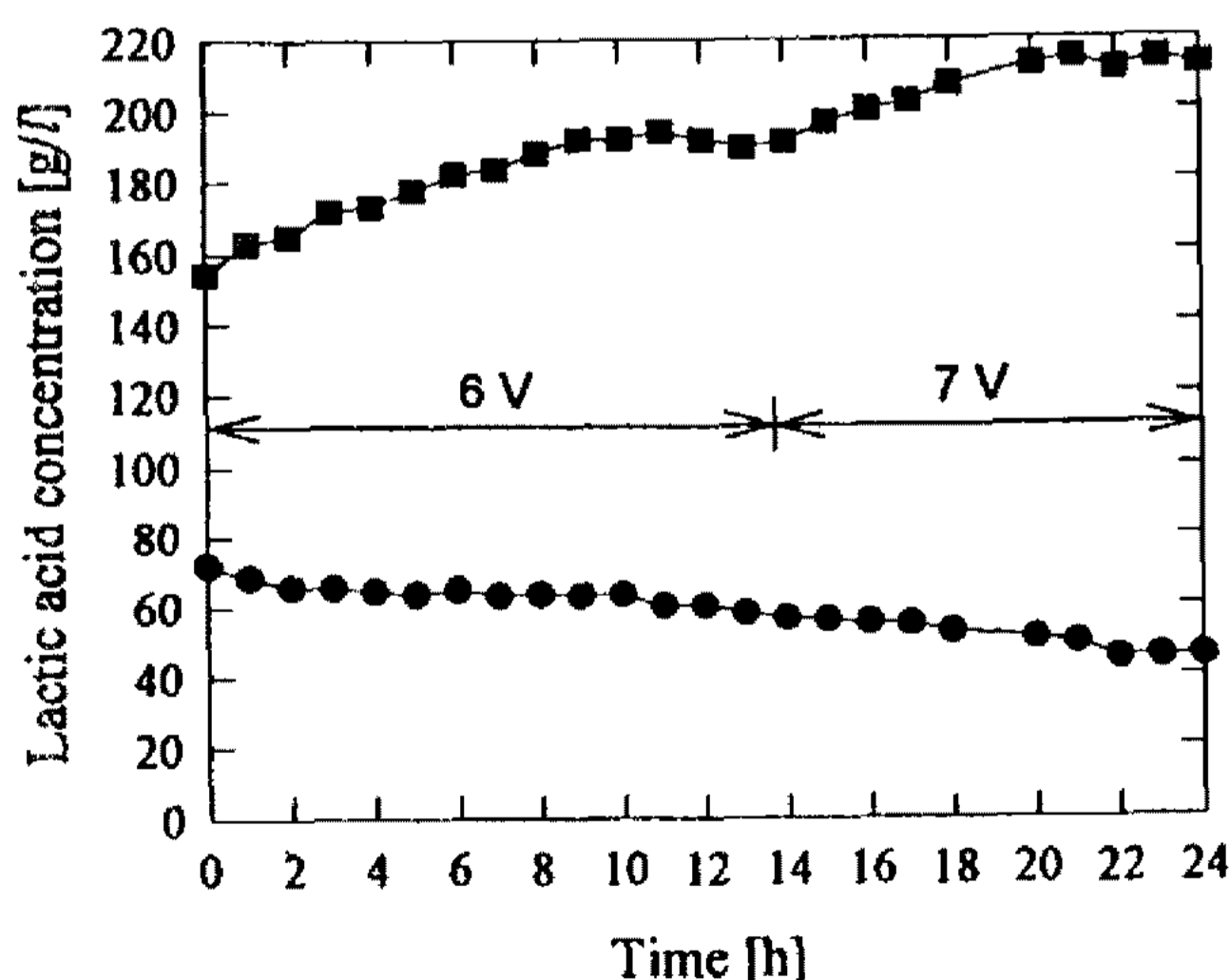


Fig. 5. Effect of voltage on concentration difference limit.

■: permeate solution, ●: source solution

Source solution의 초기 젖산 농도가 전기투석속도에 미치는 영향을 알아보았다. 사용된 젖산의 농도는 각각 0.31(27.9), 0.54(48.6), 0.74M(66.6 g/l)이었다. Source solution의 젖산 농도가 커질수록 음극 격실의 전기 저항이 작아지고 따라서 전기투석장치 전체 저항이 감소하므로 동일 전위차에 의한 전류가 증가하게 된다. 농도 증가 순으로 각각 0.9, 1.0, 1.1 A의 전류가 흘렀고, 평균 전기투석속도는 각각 1.8, 2.2, 2.5 g/h를 보였다. 따라서, 6 V의 전위차하에서 10 g/l 젖산 농도 차이가 있으면 전기투석속도에 있어서 약 0.18 g/h 차이를 보이는 것으로 나타났다.

### 온도의 영향

온도가 상승하게 되면 액체의 점도는 감소하고 이온 이동도는 증가하게 되어 용액의 전기적인 저항과 막에서의 저항은 모두 감소된다. 젖산의 전기투석에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위해 항온조를 사용하여 source solution, 침투물 용액, 양극 용액의 온도를 25°C와 35°C로 조절하면서 젖산의 투석속도를 살펴보았다. 더 높은 온도인 42°C에서의 실험은 막의 물리적 성질상의 문제로 인하여 충분한 시간에 걸친 실험이 불가능하였다. 온도의 상승은 막의 물리적 성질 저하와 빠른 노화현상을 가져오는 것으로 알려져 있다(6). 25°C에서와 35°C에서의 실험을 비교해 보면 온도가 높을 때가 낮을 때보다 약 0.17 g/h(약 10%) 더 빠른 평균 전기투석속도를 보였다. 이때 source solution의 농도는 0.3 M이었고 전위차는 6 V이었다.

### Lactate 종류 및 pH에 따른 영향

pH 조절을 위해 NaOH 또는 NH<sub>4</sub>OH로 발효에 의해 생성되는 젖산을 중화시키면, Na-lactate 또는 NH<sub>4</sub>-lactate가 생성된다. 또한, Buffer agent로서 CaCO<sub>3</sub>를 사용하면 Ca-lactate가 생성되나 칼슘에 의한 전극 주변의 침전물 형성뿐 아니라 막에 대한 CaCO<sub>3</sub>의 fouling 현상으로 조업하기 곤란하였다. 따라서 Na-lactate, NH<sub>4</sub>-lactate 두가지 젖산염의 전기투석속도만을 비교하였다. Na-lactate는 전기투석에 있어 전기전도성면에서 유리한 점이 있는 반면, NH<sub>4</sub>-lactate는 반대 이온인 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>의 이동도가 Na<sup>+</sup>의 이동도보다 크다는 면에서 유리하다(12). 실제 실험을 한 결과 source solution의 농도 효과를 고려하더라도 NH<sub>4</sub>-lactate가 모든 pH 범위에 있어서 Na-lactate보다 더 빠른 전기투석속도를 보였다(Table 1). pH에 따른 전기투석 속도변화는 약 0.6M의 젖산 용액을 NaOH와 NH<sub>4</sub>OH를 사용하여 pH를 4.0, 5.0, 6.0로 변화시켜 가면서 관찰하였다. Na-lactate와 NH<sub>4</sub>-lac-

**Table 1. Effects of two forms of lactates and pH on the electro dialysis rate of lactic acid**

pH	Na-lactate		NH <sub>4</sub> -lactate		Relative electro dialysis rate (%) ( $\frac{\text{NH}_4\text{-lactate}}{\text{Na-lactate}}$ )
	Initial concentration of source solution [g/l]	Average electro dialysis rate [g/l]	Initial concentration of source solution [g/l]	Average electro dialysis rate [g/l]	
4.0	54	4.91	56	5.79	117
5.0	55	4.48	54	5.60	125
6.0	55	4.25	54	5.12	120

tate 용액 모두 pH가 낮을 수록 더 큰 전기투석속도를 나타내는 것을 알 수 있었다. Zhang과 Toda는 아세트산의 경우에 대해  $pK_a \sim pK_a + 1$  사이의 pH에서 전기투석속도가 최대값을 갖는다고 보고하였다(13). 본 연구에 있어서도 젖산의  $pK_a$  값(3.858)에 가까운 4.0에서 Na-lactate와 NH<sub>4</sub>-lactate는 가장 빠른 전기투석속도를 보였다.

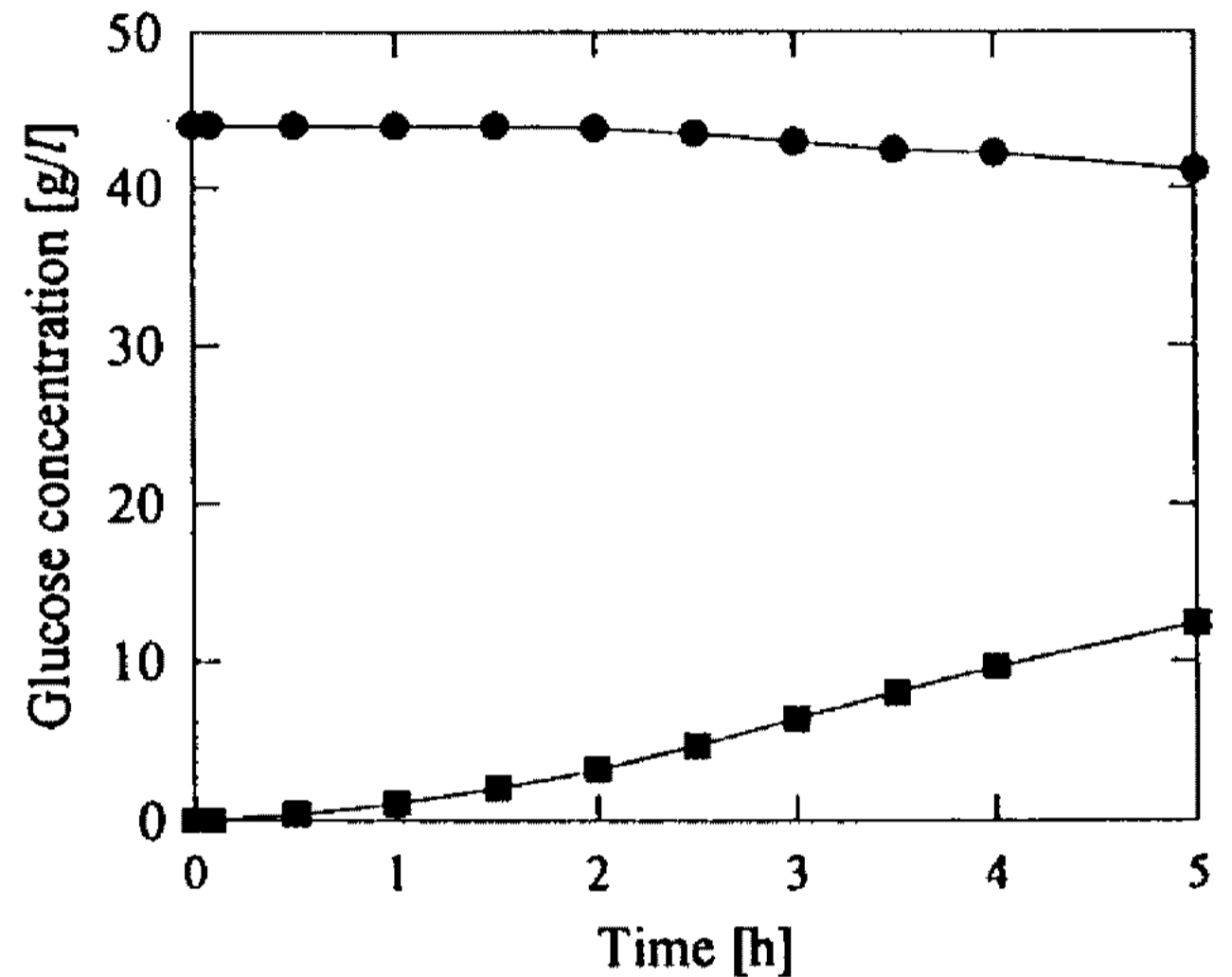
**포도당의 이온교환막을 통한 확산**

포도당은 수용액 내에서 이온화되지 않으므로, 전류에 의한 이동이 없으리라 예상되었다. 그러나, 실제 전기투석 실험을 해 본 결과 막을 통한 확산(diffusion)으로 인해 침투물 격실로 포도당이 이동되는 것을 관찰할 수 있었다. 포도당은 분자량이 180이므로 이온교환막의 pore 크기(molecular weight cut off)로는 완전히 배제될 수가 없을 것으로 생각되었다. 8 V의 전위차하에서 포도당 농도가 44 g/l일 때, 포도당의 투석량을 살펴보았는데, 전기투석 5시간 후에 포도당 3.5 g이 침투물 용액으로 이동된 것을 관찰하였다(Fig. 6). 이러한 포도당의 이동은 젖산 발효시 전기투석을 이용한 젖산의 in situ 분리를 시도하는데 있어서, 기질 사용 효율과 젖산 순도면에서 문제점이 된다.

**회분식 발효에서 젖산의 in situ 분리**

pH 제어를 하면서 발효한 경우와 pH를 제어하지 않고 전기투석만 행한 경우, pH 제어를 하면서 전기투석(전위차 8 V)을 한 세가지 경우를 검토하였다. 암모니아수를 사용하여 pH를 6.0으로 조절하였는데, 이는 암모니아수가 세포 성장에 작은 저해(14)를 줄 뿐 아니라, 이의 사용으로 생성되는 NH<sub>4</sub>-lactate가 Na-lactate보다 전기투석속도면에서 유리하기 때문이었다.

발효 초기부터 전기투석을 실행하면 젖산뿐 아니라 배지 성분중의 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 이온과 미량의 다른 이온성분이 이온 교환막을 통과하여 배지로부터 제거되기 때문에



**Fig. 6. Time profile of glucose concentration.** 8 V, initial glucose concentration=44 g/l, initial lactic acid concentration of source solution=0.59 M  
■: permeate solution, ●: source solution

너무 이른 영양분 고갈을 초래할 뿐만 아니라 전기저항의 증가로 인해 전류 효율면에서도 이롭지 않다. 그러므로, 균체 성장이 지수기 초기에 이르고 젖산이 배지중에 4 g/l 이상 존재할 때부터 전기투석을 시작하는 것이 효과적인 것으로 판단하였다. 포도당 농도가 50 g/l 정도일 때는 전기투석을 5시간 이후부터 하였고, 포도당 농도가 150 g/l 정도일 때는 6시간후부터 전기투석을 하였다.

단순히 pH 조절만 하면서 행한 회분식 실험의 경우, 발효 시작 후 14시간이 지났을 때 포도당이 모두 소비되었고, 얻어진 세포량은 10.7 g/l, 생성된 젖산의 농도는 31.3 g/l이었다(Fig. 7). pH 제어없이 전기투석을 한 실험은 발효액 중의 젖산을 제거함으로써 pH 조절을 할 수 있는가에 대한 가능성을 알아보고자 한 것이었다. Fig. 7에서 알 수 있듯이, 발효가 시작된 후 5시간이 지나면 발효액의 젖산 농도가 4 g/l를 넘게 되고 젖산 생산량이 급격히 증가하게 되는 것을 알 수 있다. 따라서, 발효 초기에는 암모니아수로 pH를

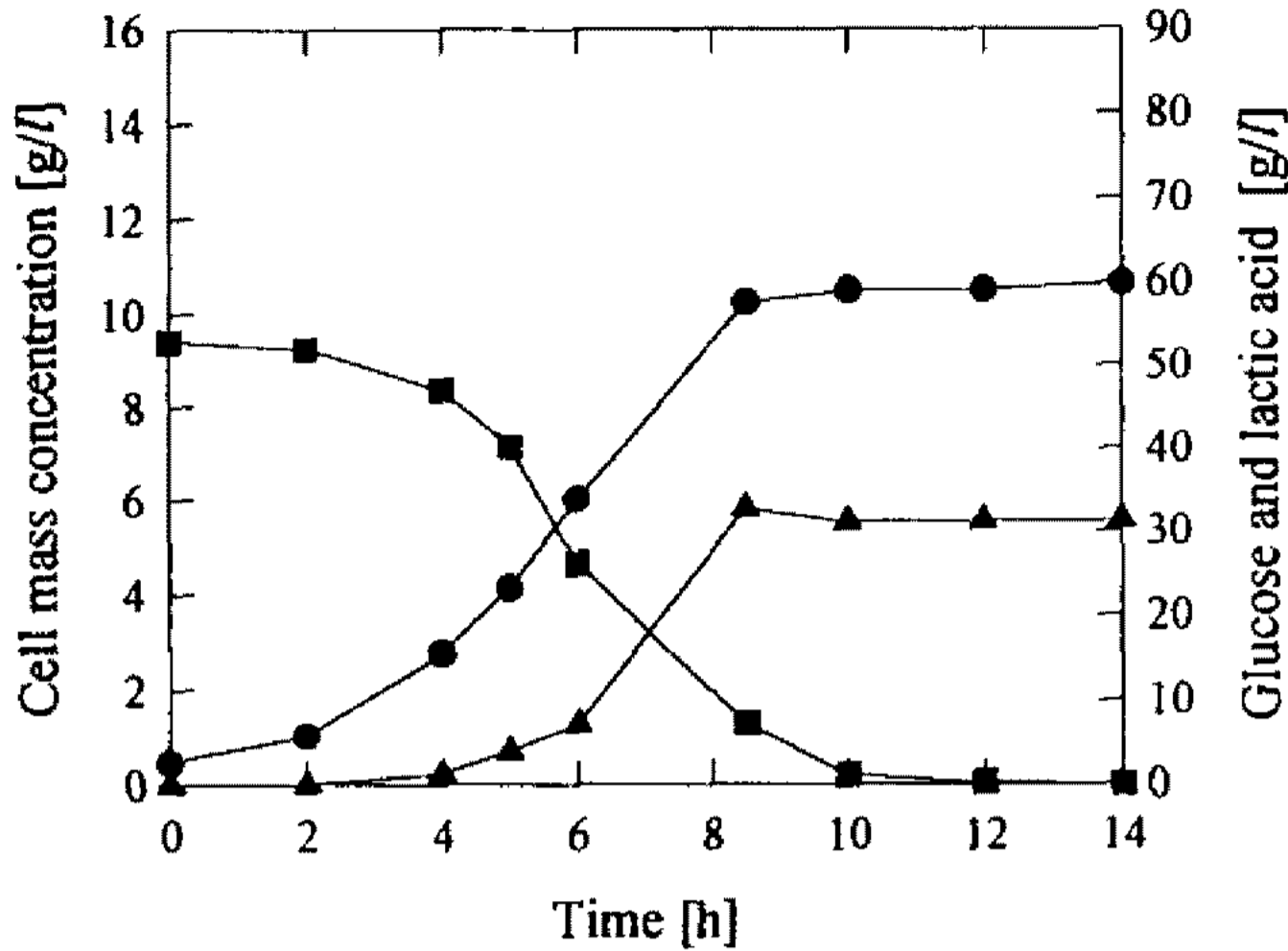


Fig. 7. Time course of batch fermentation with pH control.

initial glucose concentration = 52.6 g/l  
 ●: cell, ■: glucose, ▲: lactic acid in broth

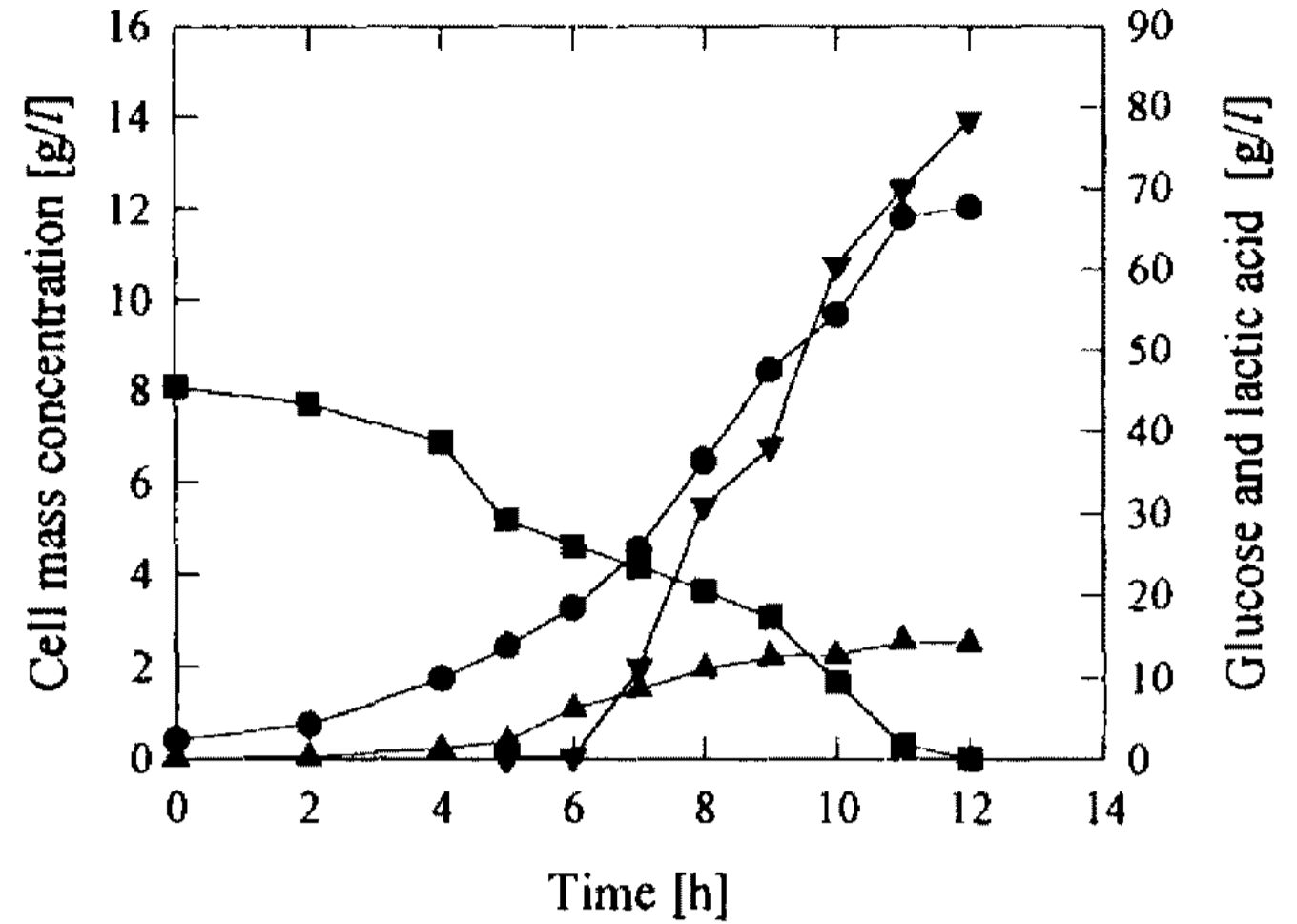


Fig. 9. Time course of ED-fermentation without pH control.

initial glucose concentration = 45.8 g/l, 8 V, permeate volume = 150 g/l  
 ●: cell, ■: glucose, ▲: lactic acid in broth, ▼: lactic acid in permeate

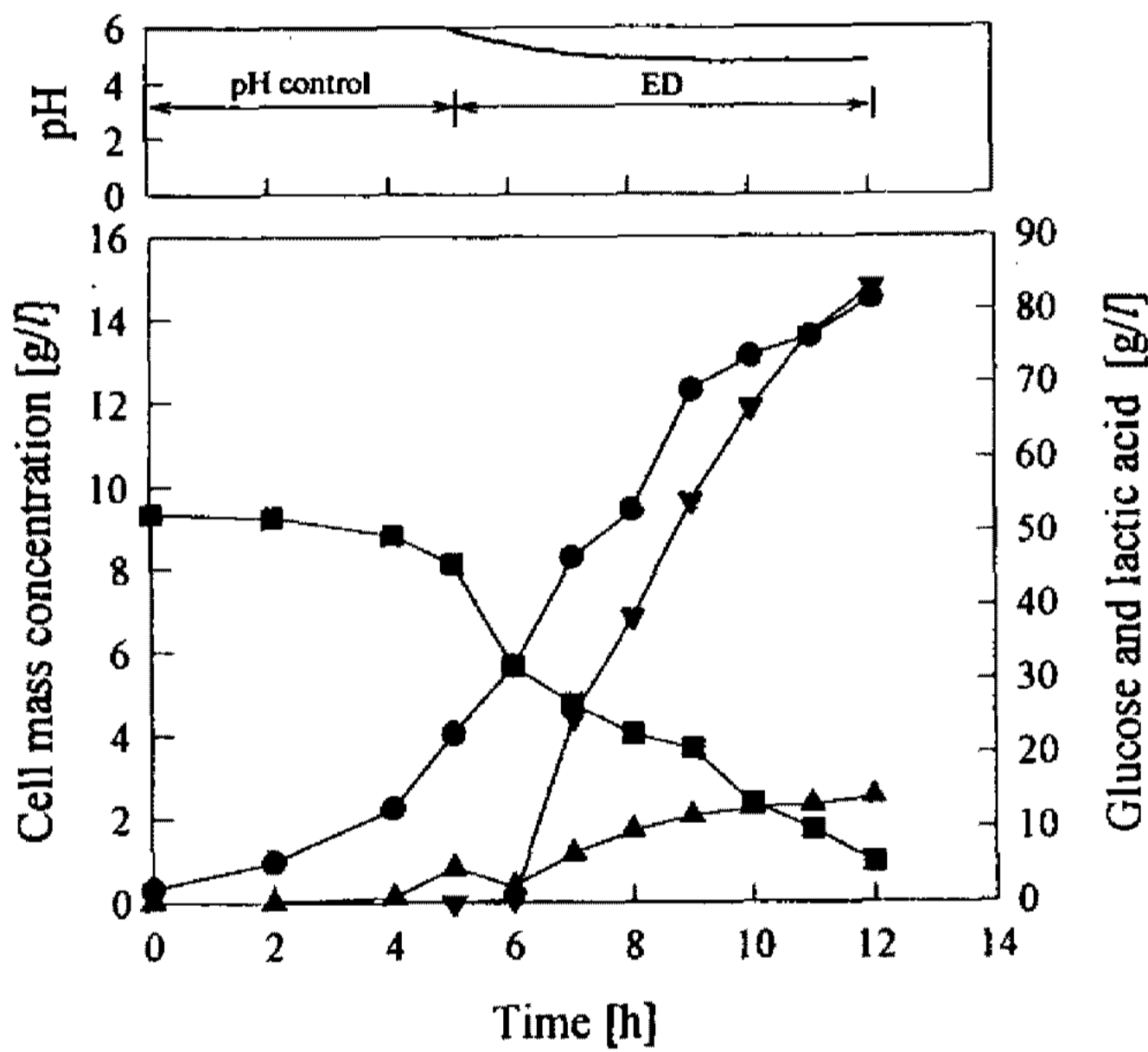


Fig. 8. Time course of ED-fermentation without pH control.

initial glucose concentration = 53.7 g/l, 8 V, permeate volume = 150 g/l  
 ●: cell, ■: glucose, ▲: lactic acid in broth, ▼: lactic acid in permeate

6.0으로 조절하였고 젖산 생산이 증대되는 5시간 이후부터는 pH를 제어를 하지 않으면서 전기투석만을 실행하였다(Fig. 8). 발효중의 pH 변화를 살펴보면, 발효시작 5시간후부터 시간이 지남에 따라 그 값이 점차 떨어져 4.8까지 감소하였다. 플라스크 실험에서와 같이 pH 조절없이 전기투석도 하지 않을 경우 pH가 3.0 이하로 내려가 균의 성장에 큰 저해를 주는 것으로 나타났다. pH가 6.0으로 유지되지 못한 이유는

사용된 전기투석장치의 용량이 적어 생성되는 젖산을 충분히 제거할 수 없었기 때문인 것으로 생각되었다. 그러나, 전기투석을 하지 않은 경우보다 약간의 수율 ( $Y_{p/s}$ ) 향상(0.60→0.64)과 생산성 향상(2.24→2.58)의 효과를 얻을 수 있었다. 전기투석만으로는 최적 pH로 유지하기 힘들었으므로  $NH_4OH$ 를 사용하여 pH를 6.0으로 조절하면서 전기투석-발효(electrodialysis fermentation)를 시도하였다(Fig. 9). 발효가 끝난 후 발효 배지 내의 최종 젖산 농도는 14.25 g/l였고, 전기투석을 이용하여 얻은 젖산 농도는 78.5 g/l로 젖산 농축비는 2.6이었다. 생산된 젖산은 총 30.4 g이었는데, 그 중에서 약 57%가 전기투석에 의해 제거·농축되었다. 이 경우 초기 포도당 농도가 앞의 두 경우와 상당히 다른 관계로 생산성을 비교하기는 힘들었다. Table 2에서는 위의 3가지 경우에 대한 주요 결과들이 요약되어 있다. 결론적으로 pH 조절을 하면서 전기투석을 행하는 것이 pH 조절 또는 전기투석만을 단독으로 한 경우에 비해 유리하기는 하나 초기 포도당 농도가 50 g/l일 때에는 그 차이가 크지 않은 것으로 판단된다.

포도당의 농도를 증가시켜 약 150 g/l의 초기 농도로 전기투석-발효실험을 하였다. 고농도의 포도당으로 인해 균체의 성장속도가 초기에 비교적 느리므로, 전기투석 시작은 6시간 후에 하였고 전위차는 6 V에서 조업하다 9시간 이후부터는 8 V로 유지하였다(Fig. 10). 이 실험 결과 약 12시간의 발효시간 단축효과(30 h→18 h)를 얻을 수 있었고, 젖산의 평균 생산성면에서도 전기투석을 하지 않은 발효(2.62 g/l·h)보다 1.7

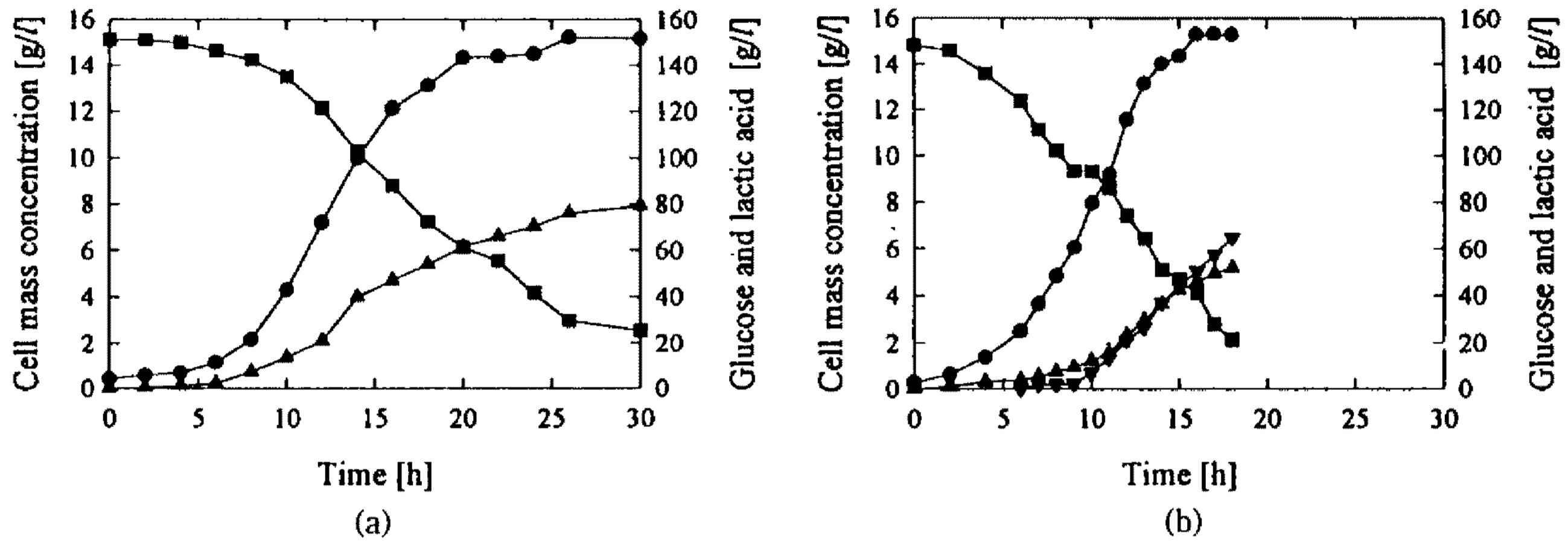


Fig. 10. Time course of fermentation with pH control.

a) Batch fermentation (initial glucose concentration = 151.2 g/l) b) ED-fermentation (initial glucose concentration = 148.3 g/l, 6~8 V, permeate volume = 400 ml)

●: cell, ■: glucose, ▲: lactic acid in broth, ▼: lactic acid in permeate

Table 2. Summary of lactic acid fermentation under different conditions

Experiment No.	ED (voltage)	Initial glucose [g/l]	Fermentation time [h]	Residual glucose [g/l]	Cell X [g/l]	Total lactic acid [g/l]	Cell yield $Y_{x/s}$	Prod. yield $Y_{p/s}$	Average productivity [g/l·h]
1	-	52.6	14	0	10.7	31.3	0.20	0.60	2.24
2*	+(8)	53.7	12	5.3	14.1	30.9	0.29	0.64	2.58
3	+(8)	45.8	12	0	12.0	30.4	0.26	0.66	2.53
4	-	151.2	30	25.6	15.2	78.5	0.12	0.63	2.62
5	+(8)	148.3	18	21.4	15.3	78.7	0.12	0.62	4.37

+: with ED, -: no ED, \*: ED only (no pH control)

배 증가한 4.37 g/l·h의 높은 생산성을 얻을 수 있었다. 이로부터 젖산 농도가 낮아 비교적 성장 저해가 크지 않았던 포도당 50 g/l인 경우와는 달리 젖산 생산량 증가로 인한 성장 저해가 큰 포도당 농도 150 g/l에서 전기투석에 의한 생산성 증가효과가 뚜렷함을 알 수 있었다. 이 결과 역시 Table 2에 요약되어 있다.

### 요 약

전기투석속도에 영향을 주는 인자로서 전압, 젖산 농도, 온도, 젖산염 종류, pH 등을 살펴보았다. 전압은 예상대로 전기투석속도에 가장 큰 영향을 주는 인자로 밝혀졌으며, 전압이 높아질수록 전기투석속도가 크게 증가하여 4, 6, 8 V의 전위차하에서 각각 0.29, 1.81, 4.43 g/h의 평균 전기투석속도를 얻었다. 동일 전압

하에서 source solution 농도가 높아질수록 전기투석 속도는 증가하였다. 또한 전기투석실험 말기에 source solution으로부터 침투물 용액으로의 젖산 이동이 두 용액간의 농도차에 의해 제한받는 현상도 관찰되었는데, 이런 현상은 전류에 의한 젖산이온 이동과 농도차에 의한 back-diffusion이 상쇄되기 때문인 것으로 해석되었다. 25°C와 35°C에서의 전기투석실험과에 따르면 10°C 온도 상승에 대해서 전기투석속도는 약 10% 증가를 보였다. pH를 4.0, 5.0, 6.0로 변화시켜 본 결과, pH 4.0에서의 전기투석속도가 가장 빠르게 나타났고, Na-lactate보다는 NH<sub>4</sub>-lactate 형태가 전기투석속도면에서 유리함을 알 수 있었다. 회분식 발효시 전기투석에 의한 *in situ* 젖산 분리효과를 알아보기 위해 pH 조절만 한 경우, pH 조절없이 전기투석만 한 경우, pH 조절과 전기투석을 동시에 한

경우 세가지 면에서 살펴보았다. 세가지 경우 중 pH 조절을 하면서 전기투석을 한 발효가 전반적으로 수율이나 생산성 면에서 효과적이었다. 초기 포도당 농도가 50 g/l인 경우에는 현저한 차이를 보이지 않았으나, 150 g/l인 경우에는 약 1.7배의 생산성 효과를 얻을 수 있었다.

### 참고문헌

1. Buchta, K. 1983. Lactic acid, Pp. 409-417. In *Biotechnology*, Vol. 3, Verlag, Chemie.
2. Vick Roy, T.B. 1985. Lactic acid, Pp. 761-776. In M. Moo-Young (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, Vol. 3, Pergamon Press, Oxford.
3. Filachione, E.M. and C.H. Fisher. 1944. Lactic acid condensation polymers. *Ind. Eng. Chem.* **36**: 223-228.
4. Lipinsky, E.S. and R.G. Sinclair. 1986. Is lactic acid a commodity chemical? *Chem. Eng. Prog.* **August**: 26-31.
5. Jain, S.M. and P.B. Reed. 1985. Electrodialysis, Pp. 575-590. In M. Moo-Young (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, Vol. 2, Pergamon Press, Oxford.
6. Solt, G.S. 1976. Electrodialysis, Pp. 229-260. In P. Meares (ed.), *Membrane Separation Process*, ELSEVIER Scientific Publishing Co.
7. Heriban, V., J. Skara, E. Sturdik, and J. Ilavsky. 1993. Isolation of free lactic acid using electrodialysis. *Biotech. Tech.* **7**: 63-68.
8. Nomura, Y., M. Iwahara, and M. Hongo. 1987. Lactic acid production by electrodialysis fermentation using immobilized growing cells. *Biotechnol. Bioeng.* **30**: 788-793.
9. Nomura, Y., K. Yamamoto, and A. Ishizaki. 1991. Factors affecting lactic acid production rate in the built-in electrodialysis fermentation, an approach to high speed batch culture. *J. Ferment. Bioeng.* **71**: 450-452.
10. De Man, J.C., M. Rogosa, and M.E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacterio.* **23**: 130-135.
11. Stanmberger, P. 1979. Electrodialysis, Pp. 726-737. In Kirk-Othmer (ed.), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 8, John Wiley & Sons.
12. Moore, W.J. 1972. *Physical Chemistry*, Pp. 420-474. Prentice Hall.
13. Zhang, S.T. and K. Toda. 1994. Kinetic study of electrodialysis of acetic acid and phosphate in fermentation broth. *J. Ferment. Bioeng.* **77**: 288-292.
14. Vick Roy, T.B., D.K. Mandel, D.K. Dea, H.W. Blanch, and C.R. Wilke, 1983. The application of cell recycle to continuous fermentative lactic acid production. *Biotech. Lett.* **5**: 665-670.

(Received 10 May 1994)