

Gluconic acid의 醱酵에 關한 研究(제1보)

醱酵槽中の 酸素移動에 미치는 Phenol誘導體 및 Catechol誘導體의 影響

李 根 泰* · 李 京 熙**

THE KINETIC STUDIES OF GLUCONIC ACID FERMENTATION (PART 1)

Effect of Phenol and Catechol Derivatives on Oxygen Transfer in the Fermentation

Keun-Tai LEE* and Kyung-Hee LEE**

The effect of phenol derivatives (guaiacol, vanillin, o-vanillin, eugenol) and catechol derivatives (pyrogallol, resorcinol) to enhance the volumetric oxygen transfer coefficient, in the aerobic fermentation was studied.

Guaiacol, vanillin, o-vanillin, pyrogallol and resorcinol revealed to enhance the volumetric oxygen transfer coefficient, and eugenol had no such ability.

The enhancement of the oxygen transfer ability is probably due to the formation of the charge transfer complex by the derivatives and oxygen molecules.

諸 論

好氣性 醱酵에 있어서 醱酵의 效果를 증가시키는 方法에 대하여 많은 研究者들에 의하여 보고되고 있다.

특히 균체의 증식 및 호흡에 필요한 용존산소(DO)의 농도를 증가시키는 것은 氣泡로부터 용액으로 移動하는 산소의 용해속도가 균체의 산소 소비 속도보다 매우 느리므로 전체 산소이동 mechanism에 있어서 용해속도가 律越이 된다.

따라서 酸素의 용해속도를 촉진시키는 方法으로서, Hassan¹⁾등의 mechanical agitation, Ho.²⁾등의 airlift fermentation, Phillips³⁾등의 Horizontal rotating fermentation등의 기계적 方法과 Aiba⁴⁾등

의 pepton 첨가 효과, Ziminski⁵⁾등의 ketone, ester, alcohol 첨가에 의한 산소의 용적이동계수의 증가 등의 유기약품 첨가에 의한 方法들이 보고되고 있다.

또한 Romeo⁶⁾등의 최근 note에서 morphine 및 codeine 첨가발효 반응에서 매우 좋은 효과를 보고하고 있다.

특히 유기약품 첨가에 의한 산소 용적이동계수의 증가는 好氣性 醱酵에 있어서 가장 효과적인 aeration method와 병행하여 좋은 결과를 기대할 수 있는 方法으로 생각된다.

따라서 본 실험에서는 cell free system에 유기약품에서 산소와 charge transfer complex를 形成하여 산소의 용적이동계수($K_L a$)를 증가 시킬것으로 기대되는 phenol 유도체 및 guaiacol, vanillin, ortho-vanillin, eugenol과 catechol 유도체 中

* 釜山水産大學 食品工學科, National Fisheries University of Busan.

** 釜山大學校 藥學大學, College of Pharmacy, Busan National University.

pyrogallol, resorcinol 을 첨가하여 유기약품의 첨가 농도에 따른 발효조 內의 산소용량이동계수를 gasing-out method⁷⁾에 의하여 측정하고 실제 발효 공정에 있어서 이들 유도체의 利用 가능성을 검토하고자 한다.

實驗裝置 및 方法

A. 理 論

醱酵槽內의 bulk gas phase에서 bulk liquid phase로 移動하는 酸素의 移動速度는 두 phase의 경계면에 있어서 다음의 식으로 표시될 수 있다.

$$\text{즉 } \frac{1}{V} \cdot \frac{dw}{dt} = K_L a (C^* - C) \quad (1)$$

여기서

C*: hypothetical oxygen concentration with bulk gas phase a bulk liquid phase.

C : dissolved oxygen concentration in bulk liquid.

$K_L a$: volumetric oxygen transfer coefficient.

초기조건으로 $t=0, C=C_0$ 에서 식(1)을 적분하면,
 $\int_{C_0}^{C^*} (C^* - C) dC = -K_L a t + \int_{C_0}^{C^*} (C^* - C) dC$ (2)

가 된다.

이 식에서 $(C^* - C)$ 의 對數値를 時間 t 에 대하여 plot 하면 직선의 기울기로써 용적이동계수($K_L a$)를 구할 수 있다.

B. 實驗方法

a) 사용 배지

본 실험에 사용한 배지는 glucose 3% potassium dehydro phosphate 0.1%, magnesium sulfate 0.1%, yeast extract 0.05%의 기본 최소 배지를 pH 6.8로써 사용하였다.

b) 용존산소의 측정

Precision Scientific製 galvanic cell oxygen analyzer 로써 측정하였다.

c) 實驗 裝置

본 實驗에서 사용한 장치는 Fig. 1과 같이 內徑 7 cm, 높이 25 cm의 유리제 column에 발효용 배지 2ℓ를 넣고 35°C±0.5를 유지 하면서 질소 기체를 폭기시켜 배지의 용존산소 농도를 0.7 mg/l 까지 逐出한 다음 평균 공기를 rotameter와 needle valve 로써 1v/v min씩 조절하여 air distributor를 통하

여 연속 공급하면서 증가하는 용존산소의 농도를 oxygen analyzer 로 측정하여 자동기록계로써 기록하였다.

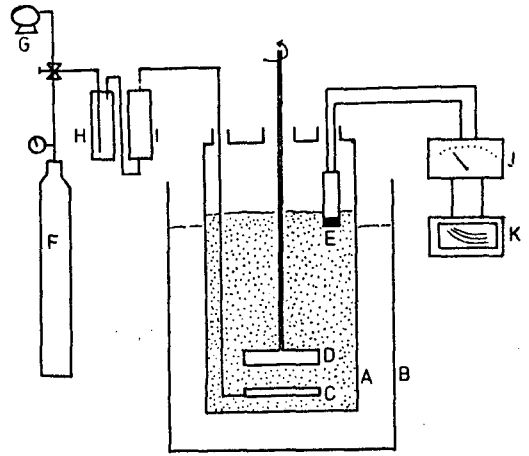


Fig. 1. Experimental apparatus.

- | | |
|---------------------|---------------------|
| A. Fermentor. | B. Water bath. |
| C. Air distributor. | D. Agitator. |
| E. DO probe. | F. Nitrogen. |
| G. Air pump. | H. Air filter. |
| I. Roamer. | J. Oxygen analyzer. |
| K. Recorder. | |

사용된 air distributor는 0.4mm 中の 구멍을 5개 /cm² 뚫은 아크릴판을 사용하였다.

實驗 結果

발효용 배지를 35°C±0.5로 유지하면서 질소 기체를 폭기시켜서 용존산소의 농도가 0.7 mg/l 까지 逐出한 다음 1v/v min의 공기를 발효조에 연속 공급하면서 포화 되어지는 용존산소의 농도 변화를 측정한 결과 유기약품 첨가 때와 무첨가 때의 값은 pyrogallol의 경우 Fig. 2와 같으며 수치적인 계산 결과는 Table 1, Table 2와 같다.

또한 pyrogallol 첨가량에 따른 용량이동계수 값은 300 ppm에서 최고값을 나타내고 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 Fig. 3에서 볼수 있다.

Fig. 4, Fig. 5에서 보는바와 같이 vanillin과 ortho-vanillin의 경우도 pyrogallol의 경향과 同一하나 250 ppm에서 각각 용량이동계수의 최고값을 나타내고 있다.

또한 guaiacol 첨가 때 Fig. 6에서와 같이 con-

Gluconic acid의 醱酵에 관한 研究(제1보)

Table 1. Calculated volumetric coefficient data containing the vanillin

| Conc (ppm) | Time (min) | C^* mg/l | C mg/l | C^*-C mg/l | $\ln(C^*-C)$ | $K_L a$ (sec^{-1}) $\times 10$ |
|---------------|---------------|---------------|-------------|-----------------|--------------|--|
| Control | 1 | 6.55 | 1.97 | 4.51 | 1.52 | |
| | 2 | ◇ | 2.93 | 3.62 | 1.29 | |
| | 3 | ◇ | 3.29 | 3.26 | 1.18 | |
| | 4 | ◇ | 3.86 | 2.69 | 0.99 | |
| | 5 | ◇ | 4.10 | 2.45 | 0.90 | |
| | 6 | ◇ | 4.22 | 2.33 | 0.85 | 4.39 |
| 100 | 1 | ◇ | 2.07 | 4.88 | 1.5 | |
| | 2 | ◇ | 3.07 | 3.48 | 1.25 | |
| | 3 | ◇ | 3.71 | 2.84 | 1.04 | |
| | 4 | ◇ | 4.3 | 2.52 | 0.92 | |
| | 5 | ◇ | 4.26 | 2.29 | 0.83 | |
| | 6 | ◇ | 4.43 | 2.12 | 0.75 | 4.94 |
| 150 | 1 | ◇ | 2.4 | 4.15 | 1.42 | |
| | 2 | ◇ | 3.47 | 3.08 | 1.12 | |
| | 3 | ◇ | 4.00 | 2.55 | 0.94 | |
| | 4 | ◇ | 4.32 | 2.23 | 0.81 | |
| | 5 | ◇ | 4.50 | 2.05 | 0.72 | |
| | 6 | ◇ | 4.57 | 1.98 | 0.68 | 5.26 |
| 200 | 1 | ◇ | 2.54 | 4.01 | 1.31 | |
| | 2 | ◇ | 3.68 | 2.87 | 1.05 | |
| | 3 | ◇ | 4.22 | 2.33 | 0.85 | |
| | 4 | ◇ | 4.50 | 2.05 | 0.72 | |
| | 5 | ◇ | 4.68 | 1.87 | 0.63 | |
| | 6 | ◇ | 4.71 | 1.84 | 0.61 | 5.88 |
| 300 | 1 | ◇ | 2.68 | 3.87 | 1.35 | |
| | 2 | ◇ | 3.84 | 2.71 | 1.00 | |
| | 3 | ◇ | 4.37 | 2.18 | 0.78 | |
| | 4 | ◇ | 4.60 | 1.95 | 0.67 | |
| | 5 | ◇ | 4.68 | 1.87 | 0.63 | |
| | 6 | ◇ | 4.74 | 1.82 | 0.60 | 5.35 |

Table 2. Calculated volumetric coefficient data of phenol derivatives and catechol derivatives

| | Conc (ppm) | $K_L a (\text{sec}^{-1}) \times 10^{-3}$ |
|------------|------------|--|
| Guaiacol | 100 | 3.33 |
| | 200 | 3.60 |
| | 300 | 3.80 |
| Control | — | 2.77 |
| Vanillin | 50 | 4.65 |
| | 100 | 4.94 |
| | 150 | 5.26 |
| | 200 | 5.88 |
| | 300 | 5.35 |
| Control | — | 4.39 |
| o-Vanillin | 50 | 3.88 |
| | 150 | 4.27 |
| | 300 | 4.50 |
| Control | — | 3.27 |
| Eugenol | 100 | 7.64 |
| | 200 | 9.29 |
| | Control | — |
| Pyrogallol | 50 | 3.5 |
| | 100 | 4.0 |
| | 200 | 4.5 |
| | 300 | 5.08 |
| | 400 | 4.91 |
| Control | — | 2.80 |
| Resorcinol | 30 | 3.5 |
| | 50 | 3.78 |
| | 100 | 4.065 |
| | 150 | 4.50 |
| | 200 | 4.44 |
| Control | — | 3.03 |

trol 보다 현저한 증가 추세를 보이고 있으며 약 300 ppm 에서 최고값을 나타내고 있다.

catechol 유도체 및 resorcinol의 경우도 Fig. 8에서 pyrogallol의 경우와 동일한 경향을 나타내며 용량이 동계수의 최고값은 약 150ppm의 resorcinol

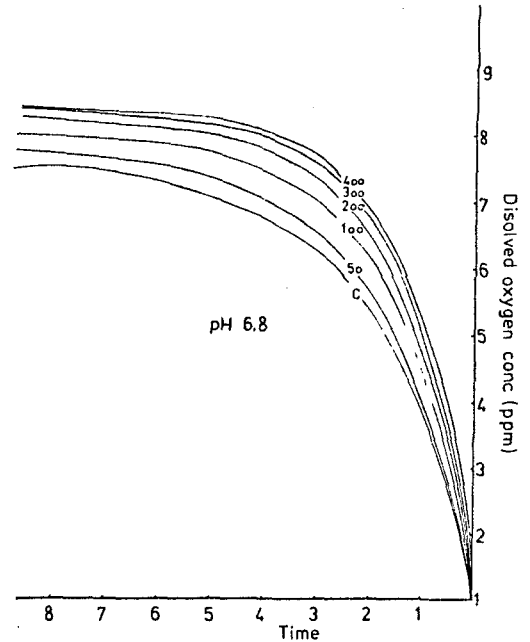


Fig. 2. Saturation curve of DO containing pyrogallol.

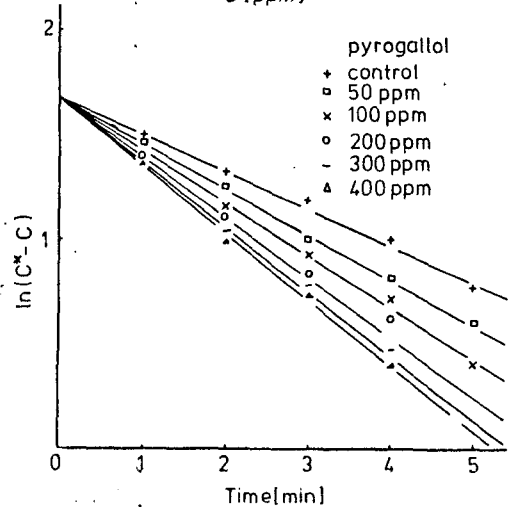
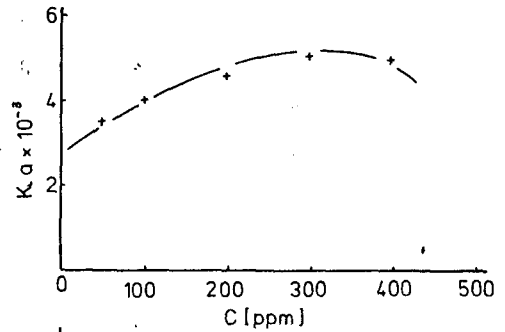


Fig. 3. Plot of $\ln(C^*-C)$ vs. time.

Gluconic acid의 醱酵에 관한 研究(제1보)

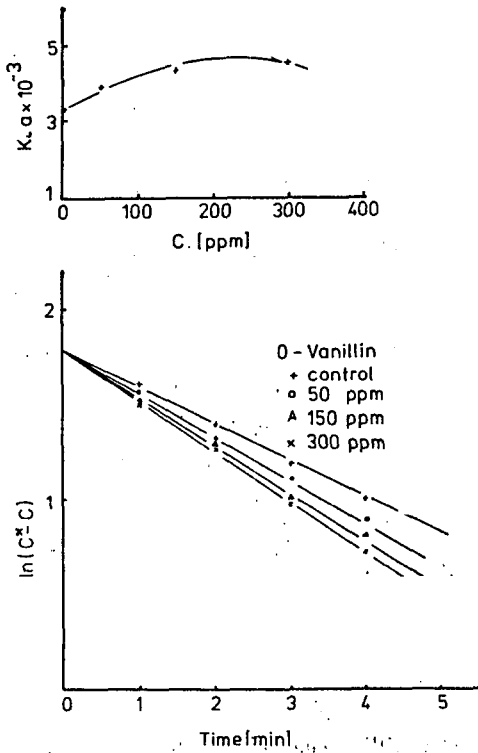


Fig. 4. Plot of $\ln(C^*-C)$ vs. time.

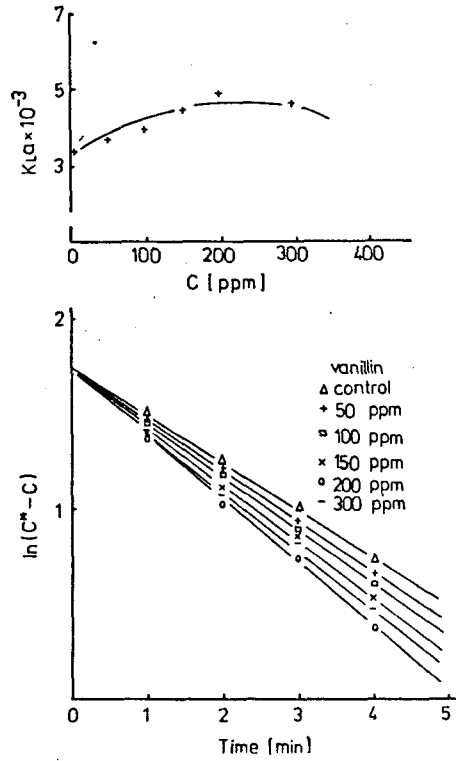


Fig. 5. Plot of $\ln(C^*-C)$ vs. time.

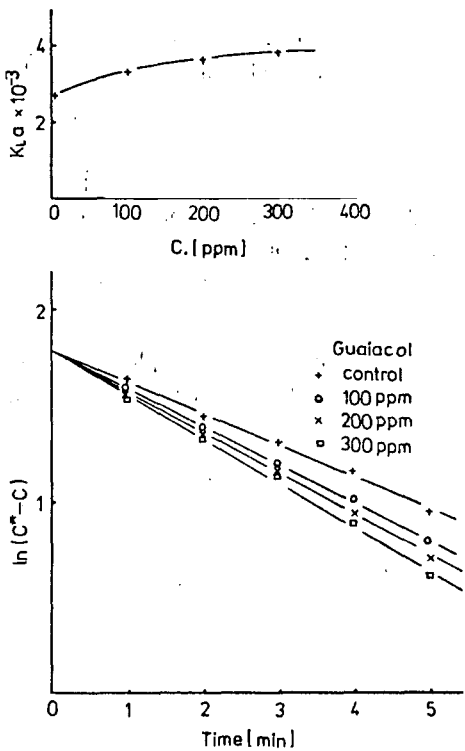


Fig. 6. Plot of $\ln(C^*-C)$ vs. time.

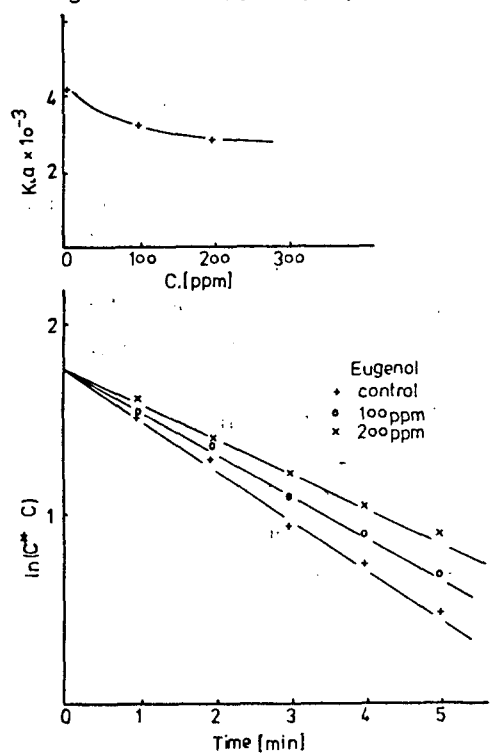


Fig. 7. Plot of $\ln(C^*-C)$ vs. time.

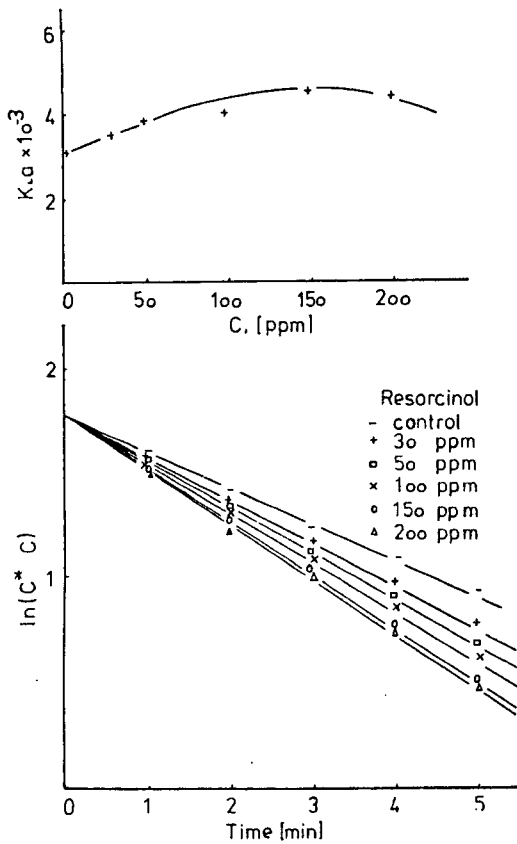


Fig. 8. Plot of $\ln(C^*/C)$ vs. time.

첨가에서 나타나고 있다.

결과적으로 eugenol (Fig. 7)을 제외한 첨가 유도체들의 효과는 이들의 첨가 농도에 정비례하지는 않으나 용량이동계수의 현저한 증가 현상을 알수 있고 특히 용존산소의 포화도가 control 보다 매우 높은 값을 나타냄은 주목할 만한 현상이다.

結論 및 요약

bulk gas phase에서 bulk liquid phase로 移動하는 酸素의 移動 mechanism은 酸素의 溶液에 대한 物理的인 吸收과 균계의 용존산소 소비속도로 나

누어 생각 할수 있으나 많은 실험 결과 물리적인 흡수가 律速으로 알려져 있으며 따라서 氣泡의 크기, 상승속도, 기포와 용액의 접촉시간 및 air distributor의 구조등이 氣體-液體의 접촉면에 있어서 경막 저항과 microbial monolayer에 의한 산소이동 저해도 중요한 인자가 된다.

그러나 경막저항을 감소시키는 方法으로써 界面활성제를 첨가한 결과 산소 이동에 미치는 영향⁸⁾도 매우 큰것으로 알려져 있다.

또한 산소는 生體系에서나 또는 化學反應系에서 여러가지 형태로 electron transfer system의 최종 electron acceptor이며 따라서 酸素는 다른 여러가지 종류의 electron donor로부터 전자를 받아 charge transfer complex를 形成하므로 여러 종류의 전자 donor存在下에서는 더욱 좋은 酸化劑로 작용한다.

이러한 현상은 catechol과 catechol amine, p-phenylene diamine과 Iodine存在下의 반응에서 증명되었다.⁹⁻¹²⁾

그러므로 phenol 유도체인 guaiacol vanilline, O-vanillin, eugenol 및 catechol 유도체인 resorcinol, pyrogallor에 存在하는 수산기(水酸基)의 전자공여 효과는 이들 물질의 전자 구조상 π 전자의 전자밀도가 증가하므로 酸素와의 charge transfer complex에 의한 phenol 유도체 및 catechol 유도체의 첨가에 따른 산소이동의 증가로 나타낸다. 이들 charge transfer complex의 완전한 해리는 酸素의 acceptor가 없는 비배양계에 있어서는 과포화의 용존산소값을 나타내는 것은 monoprotonated phenol 유도체보다 diprotonated phenol인 resorcinol에서 더욱 현저한 값을 나타내는 것은 水酸基의 전자 공여 효과에 의한 benzene 구조상의 π 전자와 酸素의 충분한 charge transfer complex의 형성이라고 생각된다. 실험결과 eugenol의 효과는 control보다 낮은 값을 나타내고 있으며 이러한 현상은 eugenol의 배지에 대한 불용성과 스포제의 역할에도 phenol 유도체가 가지는 水酸基 以外の 다른 radical의 전자의 공여 효과나 전자흡입효과에 의한 π 전자 밀도의 감소로 인한 영향으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. Hassan, I. T. M. and C. W. Robinson(1977): Oxygen transfer in mechanically agitated aqueous systems containing dispersed hydrocarbon. *Biotech. Bioeng.* 19, 661—682.
2. Ho, C. S., L. E. Erickson and L. T. Fan (1977): Modeling and stimulation of oxygen transfer in airlift fermentors. *Biotech. Bioeng.* 19, 1503—1522.
3. Phillips, K. L., H. R. Sallans and J. F. T. Spencer(1961): Oxygen transfer in fermentations. I and E. C. 53, 749—754.
4. Aiba, S. and T. Yamada (1961): Oxygen absorption in bubble aeration. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 7, 100—107.
5. Ziminski, S. A., C. C. Goodwin and R. L. Hill (1960): The effect of some organic substance on oxygen absorption in bubble aeration. *Tappi.* 43, 1029—1036.
6. Romeo, J., M. Scherage and W. W. Umbreit (1977): Stimulation of the growth and respiration of a *methylophilic bacterium* by morphin. *Appl. and Environ. Microbiol.* 34, 611—614.
7. 山田浩一(1971): 食品工業 微生物學. 光林書院. p. 277.
8. Timson, W. J. and C. G. Dunn (1960): Mechanism of gas absorption from bubble under shear. *Ind. Eng. Chem.* 52, 799—804.
9. Cilento, G. and K. Zinner(1967): Charge transfer complexes in biological oxidation. Part 1. *Biochem. Biophys. Acta.* 143, 84—92.
10. Cilento, G. and K. Zinner(1967): Charge transfer complexes in biological oxidation, Part 2. *Biochem. Biophys. Acta.* 120, 93—98.
11. Cilento, G. and K. Zinner(1967): Charge transfer complexes in biological oxidation, Part 3. *Biochem. Biophys. Acta.* 120, 244—249.
12. Pullman, B.(1968): *Molecular Associations in Biology.* Academic Press. p. 267.