

## 응집성 효모에 의한 고생산성 알콜 발효

손석민 · 김인규 · 변유량\*  
연세대학교 식품공학과

### High Productivity Ethanol Fermentation Using Flocculant Yeast

Son, Seok-Min, In-Gyu Kim and Yu-Ryang Pyun\*

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

**Abstract** — A tower fermentor equipped with a modified settler was used for ethanol fermentation using highly flocculating yeast, *Saccharomyces uvarum*. The settler was constructed of glass column divided into two chambers by a funnel shaped divider. Gas was allowed to escape from lower chamber of the settler through a small tube. This design significantly reduced the turbulence in upper chamber of the settler and made it possible to operate at high dilution rate. Using the tower fermentor, the effects of operating conditions such as initial glucose concentration, dilution rate and cell recycle ratio were studied. The maximum ethanol productivity, 64.0 g/l·h was obtained at a dilution rate 1.1 h<sup>-1</sup> and a cell recycle ratio 5 with the corresponding ethanol concentration of 58.8 g/l, and cell mass of 88 g/l.

연속발효에서 에탄올 생산성은 발효조내의 균체 농도에 의해 크게 영향을 받기 때문에 고농도 균체 발효에 의하여 생산성을 증가시키기 위하여 원심분리 및 막분리에 의하여 균체를 분리하여 재순환 시키는 방법, 응집성 효모, 고정화균체 발효 등이 활발히 연구되고 있다. 응집성 효모를 이용한 탑형 발효조는 균체를 침강시켜 배양액의 균체농도를 50~90 g/l(dry cell basis)의 고농도로 유지할 수 있고, 장기간 안정하게 조업할 수 있으며, 원심분리나 교반 장비가 필요없어 노동비와 유지 보수비가 적게 드는 잇점이 있다(1).

Ghose와 Tyagi(2) 및 Cysewski와 Wilke(3,4)는 침강조를 이용하여 응집성 효모 균체를 재순환시킴으로써 재래의 연속발효보다 4배 정도의 생산성을 증가시켰다. 그러나 이들 시스템의 가장 큰 문제점은 균체를 충분히 침강시키기 위해서는 큰 부피의 침강조가 필요하고 빠른 회석율에서는 고농도 균체를 유지하기 어렵다는 것이다. 이와같은 제약조건 때문에 지금까지 보고된 탑형 발효조를 이용한 응집성 균체

발효 시스템에서 최대 생산성을 얻을 수 있는 회석율은 0.5 h<sup>-1</sup> 범위이고 에탄올 생산성은 22~35 g/l·h이다.

그러므로 에탄올 생산성을 향상시키기 위해서는 균체를 고농도로 유지하는 동시에 높은 회석율에서 조업할 수 있어야 한다. 따라서 본 연구자들은 이와 같은 목적을 달성하기 위하여 침강조 상부에 정체 구역을 설치하여 난류를 방지하므로써 침강효율이 향상 되도록 침강조를 개량하였다. 본 연구에서는 응집성 균주인 *Saccharomyces uvarum*을 사용하여 효율적인 개량된 침강조를 설치한 탑형 발효조에서 고 생산성을 얻을 수 있는 연속 에탄올 발효 조건을 연구하였으며, 실험적으로 생육 특성과 kinetic parameter를 얻어 에탄올 생산성을 예측하고 실험 결과와 비교 고찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주

본 연구에서 사용된 균주는 고도의 응집성 효모로서 내당, 내알코올성이 우수한 ATCC 26602(*Saccharomyces uvarum*)이다. 이 균주는 YM agar 사면 배지에서

**Key words:** Ethanol fermentation, flocculating yeasts, tower fermentor

\*Corresponding author

4주마다 계대배양하여 4°C 에서 보관하여 사용하였다.

### 배지조성

본 실험에 사용된 배지의 조성(5)은 증류수 1l당 yeast extract 8 g/l, NH<sub>4</sub>Cl 8 g/l, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3.9 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g/l, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g/l, CaCl<sub>2</sub> 0.28 g/l, citric acid 4.3 g/l, sodium citrate 1.25 g/l, antifoam 0.1 ml이며 글루코오스 농도를 실험 조건에 따라 변화시켰다.

배지의 살균증 갈색화 반응과 침전 반응을 방지하기 위하여 글루코오스와 CaCl<sub>2</sub>는 그 외의 성분들과 분리하여 121°C 에서 15분간 살균한 후 상온으로 냉각시킨 다음 혼합하여 사용하였다.

### 균체 재순환 발효 시스템 구성

응집성 효모를 이용한 균체 재순환 발효 시스템의 구성은 Fig. 1과 같다. 발효조는 높이 85 cm, 내경 4 cm의 원통형 유리로 외부에 자켓을 설치하였으며, 발효조하부에는 소결유리로 만든 sparger를 장치하였다. P1 펌프에 의해 배지가 공급되고 발효조의 발효액은 P2 펌프에 의해 침강조로 배출된다. 침강조의 working volume은 200 ml로서 하부가 긴 원추형 모양인 원통형 관의 중간에 깔대기 모양의 혼합방지용

판과 CO<sub>2</sub> 배출관을 2개 설치하였다. 침강조에서 균체는 가라앉고 이 때 발생된 공기방울과 CO<sub>2</sub> 가스는 V1과 V2 밸브를 통해 배출되므로 침강조 상부에 난류가 거의 없는 정체 구역이 형성된다. 침강조 하부에 가라앉은 고농도의 균체는 P3 펌프에 의해 발효조로 순환되고, 상부의 균체가 거의 없는 발효액은 P4 펌프를 통해 외부로 배출된다.

### 분석방법

본 실험에 사용된 균주는 응집성 균주이므로 건조 균체량으로 측정하였다. 배양액을 채취하여 원심 분리한 후 생리 식염수로 세척하고 0.45 μ의 membrane filter로 여과한 다음 60°C 에서 항량이 되도록 건조시켜 건조 중량을 측정하였다.

글루코오스 농도는 glucose analyzer(Yellow Spring Instrument Model 27)에 의해 정량하였다.

배양액 1 ml를 15,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상등액 중의 에탄올을 gas chromatography(Varian 1440)로 분석하였으며, 이때 내부 표준물질은 iso-propanol을 사용하였다. 매 측정시 표준 용액을 조제하여 미리 검량 곡선을 작성한 뒤 시료의 에탄올 양을 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 응집성 효모를 이용한 회분 발효

초기 글루코오스 농도 100 g/l 배지를 사용하여 1l 발효조에서 회분 배양하였을 때 균체 생육, 글루코오스 소비 및 에탄올 생산 양상을 Fig. 2(a)에 나타내었다. 발효 13시간 만에 잔존 당량이 고갈되면서 균체 생육은 거의 완료되었으며 이때 균체 농도는 8.0 g/l, 균체 수율(Y<sub>X/S</sub>)은 0.09였고 최종 에탄올 농도는 34.5 g/l로서 에탄올 수율(Y<sub>P/S</sub>)은 0.37였다. 최대 비증식 속도(μ<sub>max</sub>)는 0.26 h<sup>-1</sup>였으며 에탄올의 평균 생산성은 2.7 g/l·h였다. 글루코오스를 기질로 할 경우 대부분의 효모의 비증식 속도는 0.4~0.45 h<sup>-1</sup>인 것으로 보고(5)되고 있는데 본 실험에 사용된 균주는 응집성 균주이므로 다소 느린 증식속도를 나타내었다.

대수증식기의 초기에 효모는 거의 응집되지 않았으나 대수증식기 중기부터 응집되기 시작하였으며 대수증식기 후기와 정지기에서 가장 잘 응집되었다. 응집에 대한 질소원의 영향으로는 인산 암모늄보다는 요소나 황산 암모늄을 사용했을 때 훨씬 잘 응집되며, 특히 MgSO<sub>4</sub> 부족 배지에서는 거의 응집되지 않고

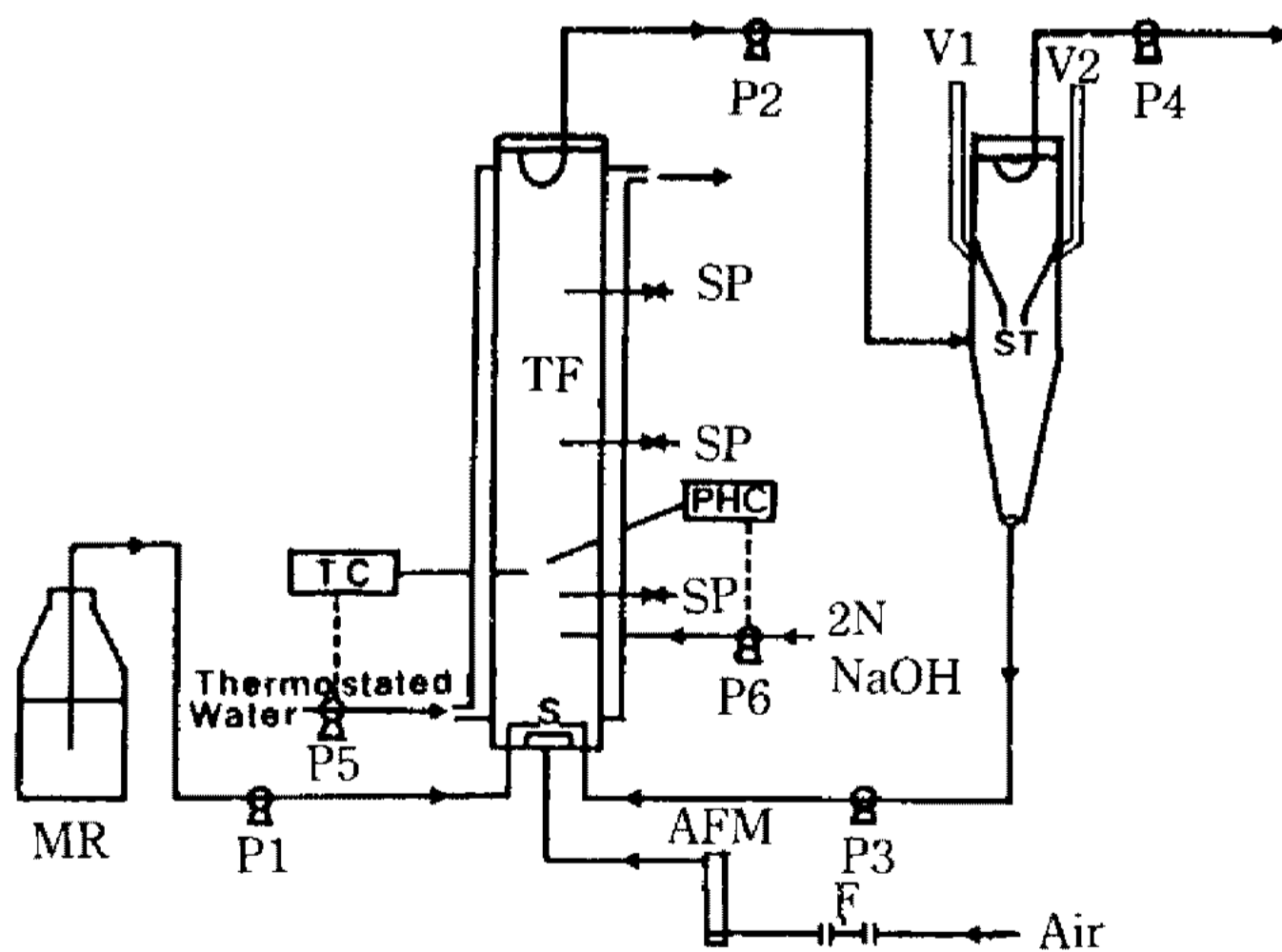
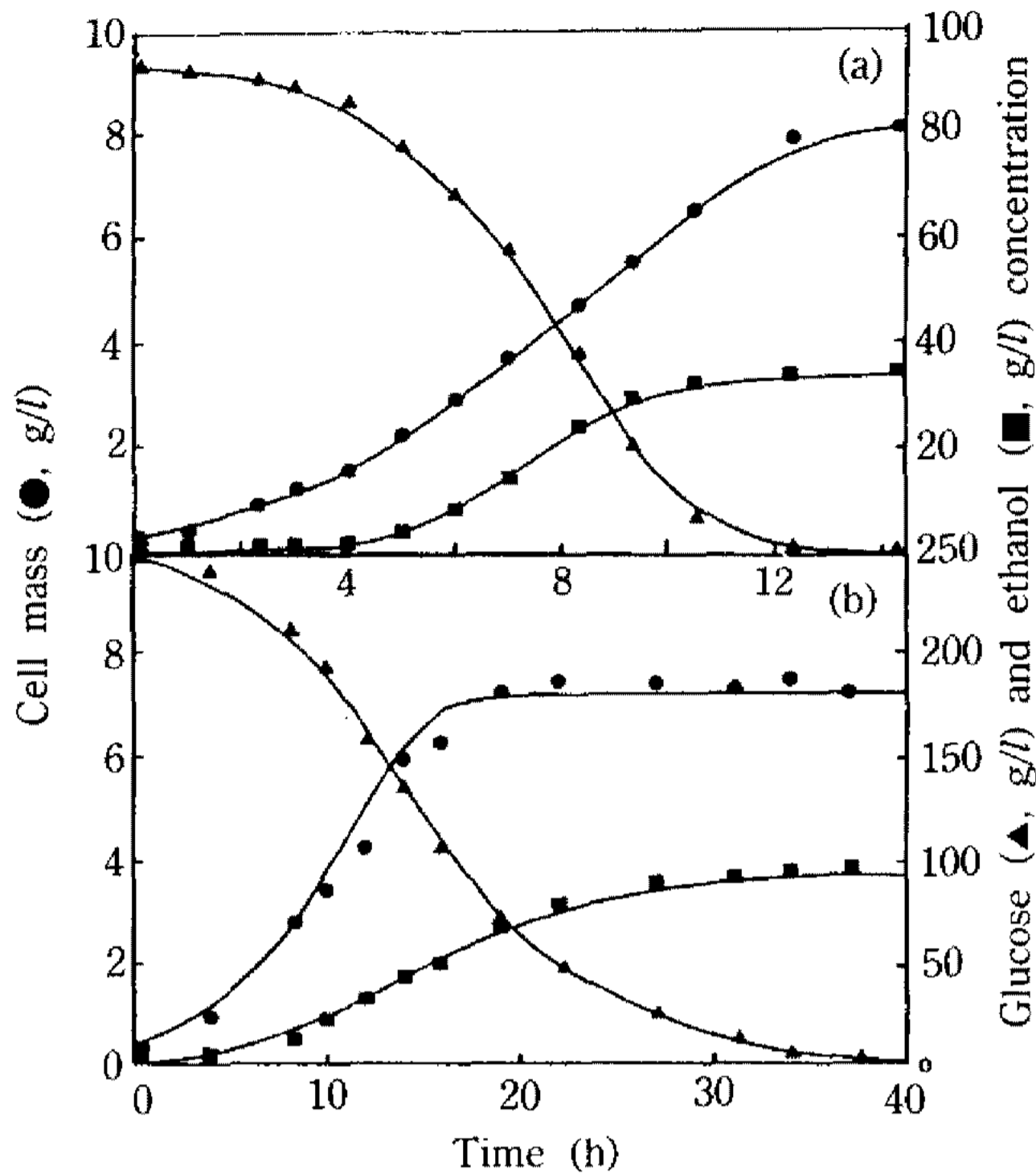


Fig. 1. Schematic diagram of tower fermentor with novel settler for continuous ethanol fermentation by flocculating yeast.

TF: tower fermentor	MR: medium reservoir
ST: settling tank	SP: sampling port
TC: temp. controller	S: air sparger
P1-P6: pumps	PHC: pH controller
AFM: air flow meter	F: filter
V1-V2: gas exit valves	



**Fig. 2. Typical batch fermentation profiles of *S. uvarum* ATCC 26602 using initial glucose concentration of 100 g/l (a) and 250 g/l (b).** Solid lines of Fig. 2B are predicted values by the kinetic model.

적어도  $Mg^{2+}$ 가 20  $\mu M$  이상의 농도에서만 응집이 일어나며, 또한 배지의 pH에 의해서도 영향을 받아 초기 pH가 3.0 이하에서는 거의 응집이 되지 않는 것으로 보고되고 있다(6).

초기 글루코오스 농도가 약 200 g/l인 배지에서는 발효 24시간만에 발효액 중의 당이 거의 고갈되면서 약 76 g/l의 에탄올을 생산하였다. 균체 농도는 8.0 g/l로서 100 g/l 글루코오스 배지를 사용하였을 때와 거의 같은 농도를 나타내었다. 당농도 100 g/l인 경우 잔당이 고갈되면서 균체 생육이 거의 완료되었으나, 당농도 200 g/l인 경우에 발효 약 13시간 후 균체 농도는 일정한데도 글루코오스는 계속 소비되면서 잔존당이 다 고갈될 때까지 에탄올이 생성되었다.

초기 당농도 250 g/l 배지에서 회분 배양했을 때 역시 초기 당농도 200 g/l 회분배양에서와 같이 균체 생육이 거의 정지된 후에도 당의 소비와 에탄올 생성은 계속되었다.

초기 글루코오스 농도를 달리하여 회분 배양한 결과를 Table 1에 정리하여 나타내었다. 초기 글루코오스 농도 100 g/l 이상에서는 최종 균체량이 거의 일정하였으나 에탄올 농도는 계속 증가 되었다. 이와같은 결과로 미루어 보아 배양액에 에탄올이 축적

**Table 1. Batch culture kinetic data of *S. uvarum* ATCC 26602 using various initial glucose concentration.**

	Initial glucose concentration (g/l)			
	100	200	300	400
Final fermentation time(h)	13	26	45	60
Cell mass (g/l)	8	8.2	8.4	7.9
Residual glucose concentration (g/l)	0	0	0	160
Ethanol concentration (g/l)	34.5	76	110	84.5
Ethanol yield (g ethanol/g glucose)	0.37	0.39	0.38	0.35
Average specific production rate (g ethanol/g cell·h)	0.33	0.35	0.30	0.18

**Table 2. Comparison of settling efficiency of two different settlers for tower fermentor at dilution rate 0.5 h<sup>-1</sup>.**

	Simple settler	Modified settler
Dilution rate (h <sup>-1</sup> )	0.5	0.5
Cell mass (g/l)	35	88
Glucose concentration (g/l)	76	42.7
Ethanol concentration (g/l)	46	70.8
Ethanol productivity (g/l·h)	23	35.4

됨에 따라 균체 생육이 억제되나 에탄올 생산을 저해하는 에탄올 농도는 균체 생육을 저해하는 농도보다 높기 때문에 에탄올 발효는 계속 되는 것으로 생각된다. 또한 에탄올 수율은 전 글루코오스 농도에서 0.37~0.39로 비교적 일정하게 유지되었다. 그러나 초기 글루코오스 농도 400 g/l에서는 기질 저해 현상이 나타나 에탄올 수율이 0.35로 감소할 뿐만 아니라 60시간 발효후에도 160 g/l의 글루코오스가 남았으며 최종 에탄올 농도도 낮았다.

**개량된 침강조의 효율**

응집성 효모를 이용하여 고농도 균체 연속 발효를 하기 위해서는 침강조에서 효과적으로 응집 균체를 침강시켜 분리한 후 이를 발효조로 재순환시켜야 한다.

단순한 컬럼형과 개량된 침강조의 발효 성적을 Table 2에 비교하여 나타내었다. 희석율 0.5 h<sup>-1</sup>에서 단순한 conical cylinder 침강조를 사용하여 균체를 재순환 시킨 결과 침강효율이 낮아 침강조에서 상당량의 균체가 유출되어 발효조의 균체농도는 35 g/l,

에탄올 농도는 46 g/l, 에탄올 생산성은 23 g/l·h 정도로 현재까지 문헌상에 보고된 수준이었다. 이와같이 침강효율이 낮은 것은 cylinder의 중앙부근에서 유입된 발효액이 상부로 유출될 때 형성되는 흐름과 settler 내에서 발생하는 CO<sub>2</sub>에 의하여 난류가 형성되기 때문이다. 따라서 이를 방지하기 위하여 cylinder 내부에 깔대기 모양의 난류 방지판을 설치하여 깔대기 중앙의 관을 통해서 발효액이 상승하고 동반된 소량의 균체는 원추형의 깔대기 벽을 따라 하부로 하강하게 하였으며, 또한 깔대기 하부에 CO<sub>2</sub> 배출관을 2개 설치하여 깔대기 상부에 정체구역이 형성되도록 개량하였다.

개량된 침강조를 사용한 결과 침강 효율이 매우 우수하여 유출액 중에 응집성 균체가 거의 배출되지 않고 완전히 순환되어 발효조 내의 균체 농도는 88 g/l의 높은 농도를 유지하였으며, 발효액 중의 에탄올 농도는 70.8 g/l, 에탄올 생산성은 35.4 g/l·h로 생산성에 있어서도 1.5배 이상 향상되었다.

**균체순환 연속 발효에서 균체순환율의 영향**

회석률  $D=1.0\text{ h}^{-1}$ 에서 균체 순환율이 에탄올 생산성에 미치는 영향을 Fig. 3에 나타내었다. 여기서 균체 순환율은 배지의 공급유량과 침강조 하부에서 발효조로 순환하는 액량의 비율을 의미한다. 200 g/l의 글루코오스를 공급하면서 균체 순환율을 1에서 9까지 변화 시켜본 결과, 균체 순환율이 5 정도까지는 균체량이나 에탄올 생산성이 약간 증가하였으나 균체 순환율이 5 이상이 되면서 균체량이나 에탄올 생산성이 감소하였다. 이와같은 이유는 침강조로 유입되는 유속이 너무 커서 균체가 충분히 침강하지 못하고 침강조에서 일부의 균체가 유출되므로 균체량과 에탄올 생산성이 감소하기 때문이다. 최적 에탄올 생산성은

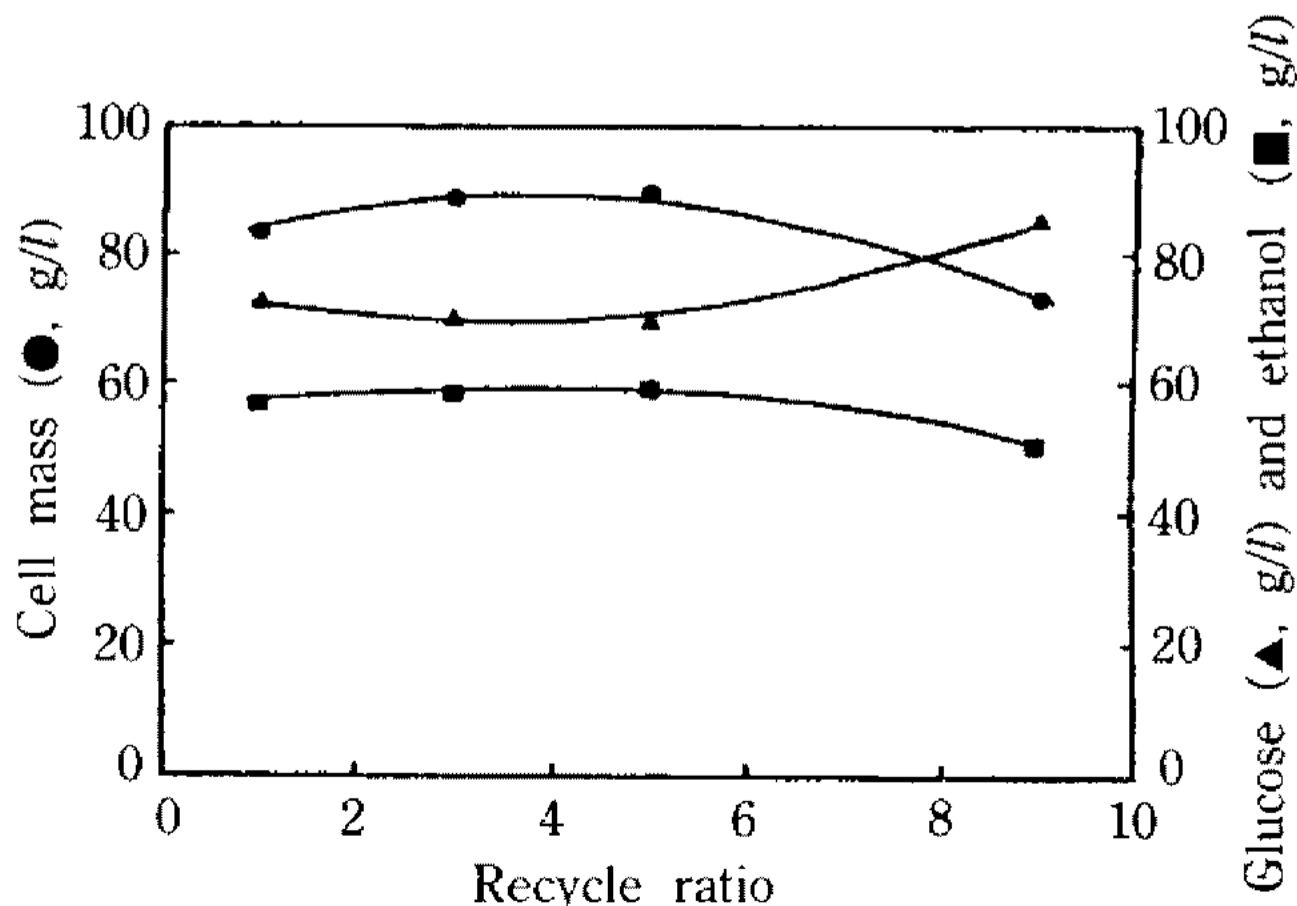


Fig. 3. Effect of cell recycle ratio on the ethanol production at dilution rate  $1.0\text{ h}^{-1}$ .

균체 순환율 5에서  $59.1\text{ g/l}\cdot\text{h}$ 였으나, 균체 순환율 2~5 범위에서는 에탄올 생산성의 차이가 거의 없었다.

Karnjanasiriwan 등(7)은  $40^\circ\text{C}$ 에서 생육할 수 있는 고온성 응집성 효모 *S. cerevisiae* TS4를 이용한 탑형 발효조의 발효 연구 결과  $D=0.56\text{ h}^{-1}$ 에서 균체 농도 50 g/l, 에탄올 농도 49.2 g/l, 균체 순환율 7일 때 최대 생산성  $20\text{ g/l}\cdot\text{h}$ 를 얻었다. Limtong 등(8)은 최대 에탄올 생산성을 나타내는 최적 균체 순환율을 컴퓨터 묘사를 통해 예측한 결과 일반적으로 회석률이 높아 질수록 낮은 균체 순환율에서 최대 에탄올 생산성을 얻을 수 있는 것으로 보고하였다. 따라서 최적 균체 순환율은 회석율에 따라 좌우될 뿐 아니라 침강조의 특성에 의해 크게 좌우되는 것으로 생각된다.

**균체 재순환 연속 발효에서 회석율의 영향**

현재까지 보고된 침강조를 사용한 탑형 발효조에서 응집성 효모에 의한 에탄올 발효는 침강조의 침강효율의 제한 때문에 높은 회석율에서 조업할 수 없었다.

개량된 침강조를 사용하여 글루코오스 200 g/l의 배지를 공급하면서 균체순환율 5, 회석율  $0.2\sim 2.0\text{ h}^{-1}$  범위의 균체순환 연속 발효한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 실험 범위의 모든 회석율에서 발효조내의 균체 농도를  $70\sim 90\text{ g/l}$ 의 고농도로 유지할 수 있었으며, 상당히 높은 회석율  $2.0\text{ h}^{-1}$  정도까지 조업이 가능하였다. 에탄올 생산성은 회석율  $1.1\text{ h}^{-1}$ 에서 최고  $64.0\text{ g/l}\cdot\text{h}$ 를 얻을 수 있었으며, 이때 에탄올 농도는 58.8 g/l, 에탄올 수율은 평균 0.45 정도의 값을 보였다. 회석율  $1.1\text{ h}^{-1}$  이상에서는 에탄올 생산성은 더 이상 증가하지 않았으며 잔당 함량이 현저히 증가하여 회석율  $2.0\text{ h}^{-1}$ 에서 당이용율은 60%에 지나지 않았다.

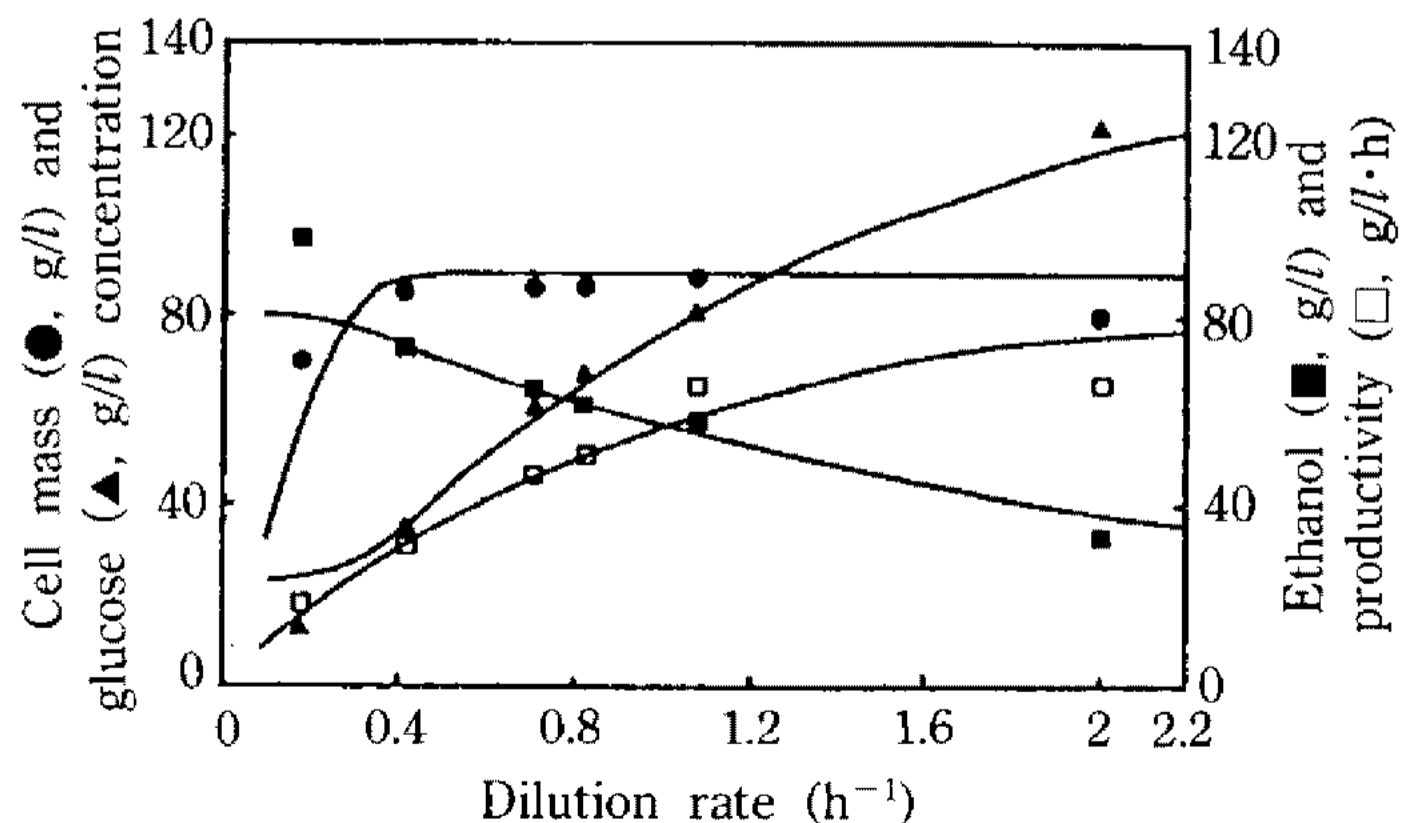


Fig. 4. Effect of dilution rate on ethanol fermentation for cell recycle tower fermentor ( $S_0=200\text{ g/l}$ ). Solid lines are predicted value by the kinetic model.

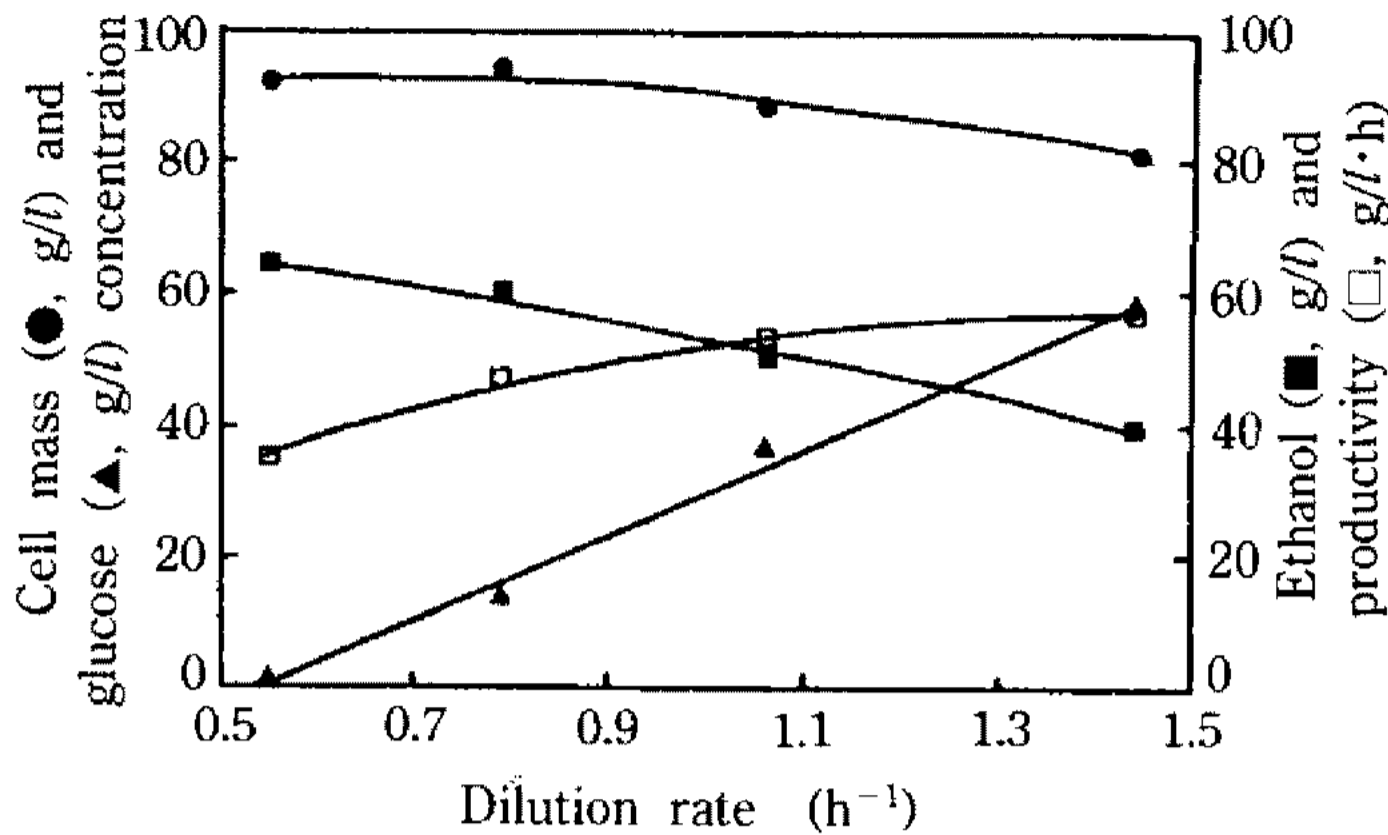


Fig. 5. Effect of dilution rate on ethanol fermentation with cell recycle tower fermentor ( $S_0=150$  g/l).

이와같은 결과로 미루어 볼 때 글루코오스농도 200 g/l 배지로 연속 배양하는 것은 당이 과량으로 공급 되는 것으로 판단되어 배지의 글루코오스 농도를 150 g/l로 낮추어 연속 발효한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 발효조내의 균체량은 80~90 g/l의 고농도로 유지되었고 글루코오스에 대한 에탄올 수율은 전 희석률에서 0.44 정도로 유지되었다. 이와같은 에탄올 수율은 *S. cerevisiae*의 평균수율 0.43(9)과 거의 같은 수준이나 *Z. mobilis*의 0.45~0.49(10)보다 다소 낮다. 희석률 1.44 h<sup>-1</sup>에서 최고 에탄올 생산성 57.9 g/l·h를 얻을 수 있었으며 이때 에탄올 농도는 40 g/l였다. 한편 D=1.0 h<sup>-1</sup>에서 생산성은 55 g/l·h로서 D=1.44 h<sup>-1</sup>보다 약간 낮았으나 반면에 에탄올 농도는 51.1 g/l로서 현저히 높아 에탄올 회수비를 고려한다면 D=1.0 h<sup>-1</sup>가 유리할 것으로 생각된다.

Kitu 등(11)은 protoplast fusion으로 얻은 응집성 효모 HA2를 이용하여 D=0.4 h<sup>-1</sup>일 때 에탄올 농도 63 g/l, 최대 생산성 25 g/l·h를 얻었다. Shinza 등(12)은 응집성 맥주 효모의 연속 발효에서 D=0.3 h<sup>-1</sup>일 때 에탄올 농도 74 g/l, 최대 생산성 22 g/l·h를 얻었다. Limtong 등(8)은 응집성 *S. cerevisiae* TJ1을 이용한 균체 순환 연속 발효에서 D=0.5 h<sup>-1</sup>일 때 에탄올 농도 61 g/l, 균체농도 78 g/l, 최대 생산성 34.6 g/l·h를 얻었으며, Kuriyama 등(13)은 인도네시아에서 분리한 IR-2 균주를 2단 탑형 발효조, 1개의 침강조에서 연속 발효하여 최대의 생산성 34.6 g/l·h를 얻었다. 또한 Prince와 Banford(14)는 유도한 응집성 효모 *S. cerevisiae* UNSW703100을 탑형 발효조에서 발효하여 D=0.54 h<sup>-1</sup>일 때 에탄올 농도 51.4 g/l, 최대 생산성 26.5 g/l·h를 얻었다.

이와같이 현재까지 보고된 응집성 효모를 이용한

Table 3. Kinetic parameters used for computer simulation.

Parameters	Value
Max. specific growth rate, $\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	0.26
Max. specific ethanol production rate, $\mu_{max}$ (g/l)	1.44
Max. ethanol concentration for growth, $P_m$ (g/l)	60
Max. ethanol concentration for ethanol production, $P'_m$ (g/l)	113
Max. cell concentration for growth, $X_m$ (g/l)	90
Saturation constant, $K_s$ (g/l)	0.5
Modified saturation constant, $K'_s$ (g/l)	15
Settling constant, C	0.001

연속 배양에서는 희석율 0.5 h<sup>-1</sup> 근방에서 최대 에탄올 생산성을 얻었으며 에탄올 생산성은 22~34.6 g/l·h 범위이다. 이와같은 결과와 비교할 때 본 연구에서의 생산성은 현재까지 보고된 생산성의 2~3배에 달하는 매우 우수한 결과이다.

균체 재순환 발효모델

전술한 바와 같이 발효액중 에탄올 농도가 높아지면 균체 생육은 거의 정지하였으나 당의 소비와 에탄올의 생성은 계속되는 양상을 관찰할 수 있었으며, 본 실험은 고농도 에탄올을 유지하면서 균체를 재순환시키는 발효시스템이다. 따라서 에탄올 생산을 균체 생육의 함수로 나타내는 대신에 당소비량의 함수로 식 (1)와 같이 모델화하였다. 또한 균체의 비증식속도 ( $\mu$ )와 에탄올 비생산속도( $v$ )는 식 (2) 및 식 (3)과 같이 표현하였으며(15), 균체 생육을 저해하는 에탄올 농도( $P_m$ ), 에탄올 생성 자체를 저해하는 에탄올 농도 ( $P'_m$ ) 및 실험적으로 구한 모델의 각 parameter는 Table 3에 나타내었다.

$$\frac{dP}{dt} = -Y_{P/S} \cdot \frac{dS}{dt} \tag{1}$$

$$\mu = \mu_m \cdot \left( \frac{S}{K_s + S} \right) \cdot \left( 1 - \frac{P}{P_m} \right) \cdot \left( 1 - \frac{X}{X_m} \right) \tag{2}$$

$$v = v_m \cdot \left( \frac{S}{K'_s + S} \right) \cdot \left( 1 - \frac{P}{P'_m} \right) \tag{3}$$

탑형 발효조를 이용한 균체 재순환 발효 시스템에 대한 물질수지식은 다음과 같다.

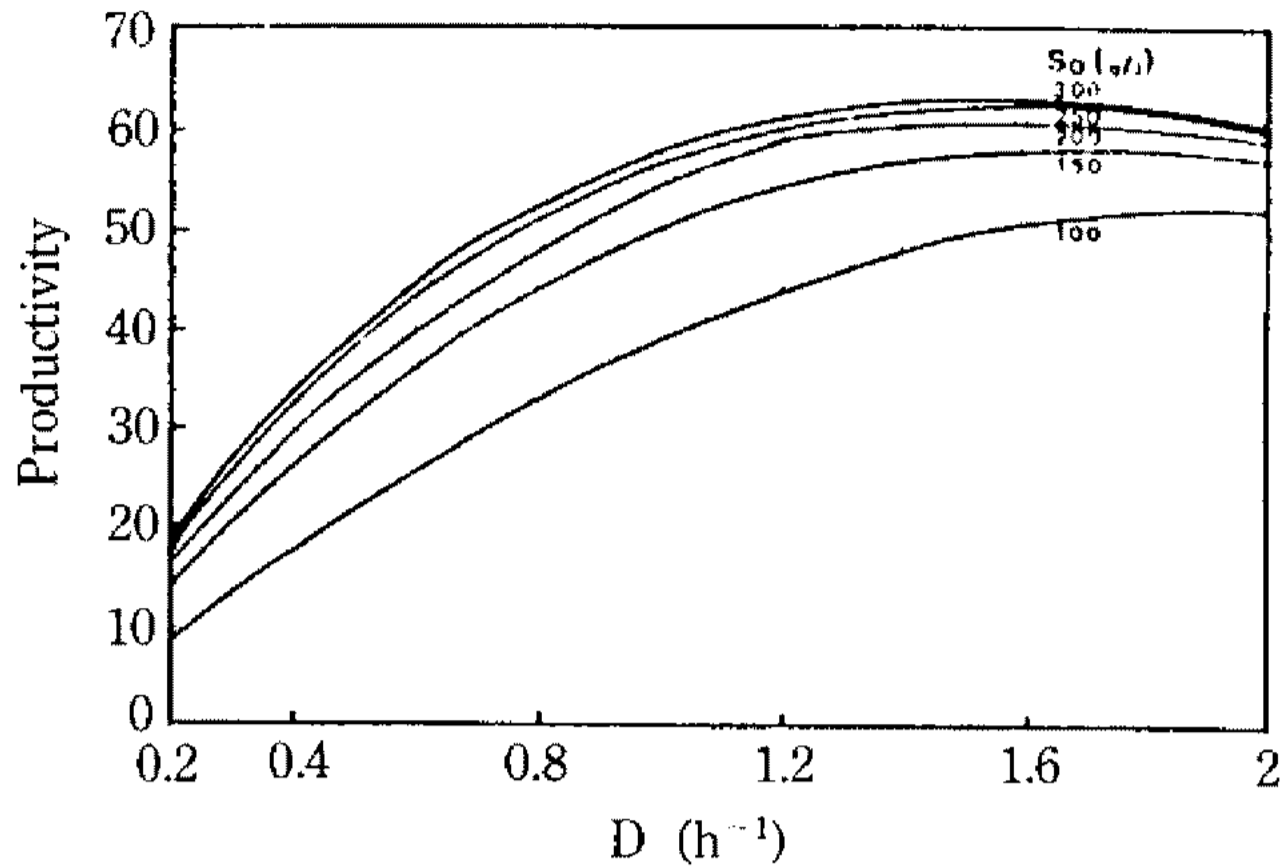


Fig. 6. Productivity analyses for continuous ethanol fermentation with flocculant yeast, *S. uvarum* ATCC 26602.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DCX \quad (4)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{vX}{Y_{P/S}} \quad (5)$$

$$\frac{dP}{dt} = vX - DP \quad (6)$$

위의 모델식을 Runge-Kutta-Gill method에 의해 적분 하였다. 초기 글루코오스 농도 250 g/l의 희분 배양에서 균체 생육, 당 소비 및 에탄올 생성에 대해 컴퓨터 묘사한 결과 Fig. 2(B)에 나타낸 것과 같이 예측값과 실험값이 거의 일치함을 알 수 있다.

한편 당농도 200 g/l 배지를 공급하면서 연속 배양한 결과를 컴퓨터 묘사하여 Fig. 4에 실선으로 나타내었다. 너무 낮은 희석율과 높은 희석율에서는 실험결과와 약간의 편차가 있으나 대부분의 희석율에서는 잘 일치하였다. 너무 낮은 희석율에서는 maintenance energy를 고려하지 않았기 때문이며 2.0 h<sup>-1</sup> 이상의 높은 희석율에서는 유입 액량이 너무 많아 상당량의 균체가 유출되기 때문인 것으로 생각된다.

균체 재순환 연속발효에서 에탄올 생산성에 대한 희석율의 영향을 컴퓨터 묘사를 통해 예측한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 에탄올 생산성은 낮은 희석율에서는 증가하다가 일정 희석율 이상에서는 그값이 일정하게 유지되거나 완만히 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 경향은 배지 공급 농도에 따라 약간의 차이는 있으나 배지 농도 150~300 g/l인 경우 희석율 1.3~1.8 h<sup>-1</sup> 범위에서 생산성은 거의 일정하게 유지되었으며 그 이상에서는 완만히 감소하였다.

공급 배지의 글루코오스 농도가 최대에탄올 생산

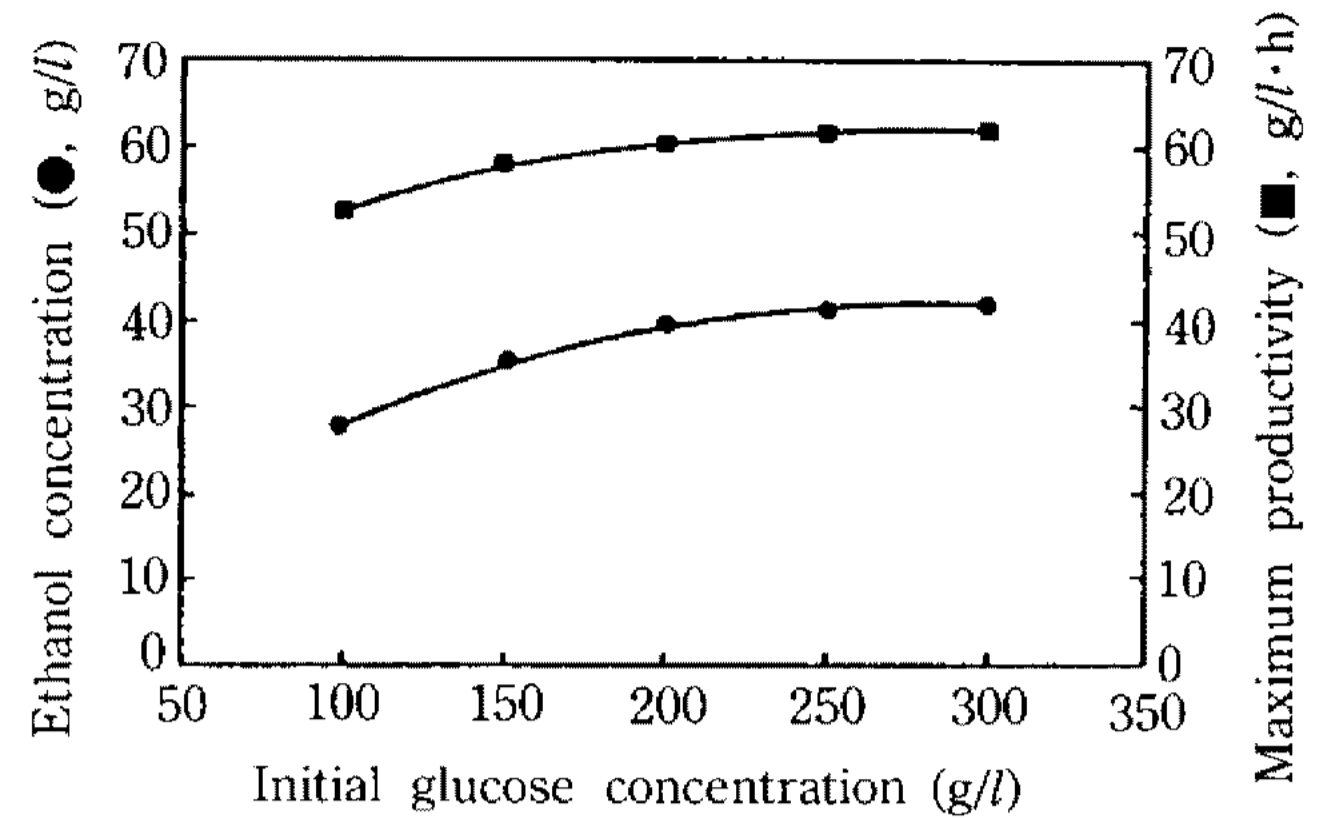


Fig. 7. The effect of glucose concentration on ethanol productivity.

성과 발효액중의 에탄올 농도에 미치는 영향을 Fig. 7에 나타내었다. 에탄올 생산성은 글루코오스 농도 200 g/l까지는 증가되었으나 그 이상의 농도에서는 증가되지 않았다. 한편 발효액중의 에탄올 농도도 당 농도 200 g/l까지는 급격히 증가하였으나 그 이상 농도에서는 완만히 증가하였다. 이와같은 결과를 종합해 볼 때 공급배지의 최적 글루코오스 농도는 200 g/l인 것으로 판단된다.

글루코오스 200 g/l의 경우 희석율 1.35 h<sup>-1</sup> 이상에서는 에탄올 생산성 61 g/l·h로 일정하게 유지되었다. 이는 앞의 균체 재순환 연속발효 실험에서 희석율 1.1 h<sup>-1</sup> 이상에서는 에탄올 생산성이 64 g/l·h로 일정하게 유지된 것과 비슷한 결과이다. 150 g/l의 경우 희석율 1.44 h<sup>-1</sup>에서 57.9 g/l·h의 최대 에탄올 생산성을 보였고 컴퓨터 묘사를 통해 예측한 에탄올 생산성은 희석율 1.55 h<sup>-1</sup>에서 58.3 g/l·h를 보이므로 실험값과 예측값이 거의 일치함을 알 수 있었다. 최대에탄올 생산성을 나타내는 희석율은 공급하는 글루코오스 농도가 낮아질수록 높은 희석율로 이동되었다.

## 요 약

침강조의 중앙에 깔대기 모양의 판을 설치하고 방해판 아래 다시 공기 방울과 CO<sub>2</sub> 가스의 별도 배출구를 설치하여 상부로의 난류를 방지하므로 침강 효율이 크게 향상되도록 settler를 고안하였다. 이 settler를 설치한 탑형 발효조에서 응집성효모 *S. uvarum*의 에탄올 생산성을 검토한 결과 방해판을 설치하지 않은 단순한 원통형 settler에 비하여 1.5배 증대되었다. 또한 탑형 발효조에서 균체 순환율이 에탄올 생산성에 미치는 영향을 살펴본 결과 균체 순환율 1~5 사이에서는 에탄올 생산성의 변화가 거의

없었으나 6 이상에서는 균체가 유출되므로 에탄올 생산성이 감소하였다. 글루코오스 200 g/l의 배지를 공급하면서 균체 재순환 연속 에탄올 발효를 한 결과 침강조의 침강성이 매우 우수하여 회석율 2.0 h<sup>-1</sup>까지 조업이 가능하였으며, 회석율 1.1 h<sup>-1</sup>에서 최고 에탄올 생산성 64.0 g/l·h를 얻었다. 이 때 잔당은 80.3 g/l, 균체 농도는 88 g/l, 생성된 에탄올 농도는 58.8 g/l였다. 이와같은 생산성은 현재까지 보고된 응집성 효모의 에탄올 생산성에 비하여 2~3배 향상된 매우 우수한 결과이다.

### 감사의 말

본 연구는 동력자원부에서 시행한 91 대체에너지 기술개발 사업의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Raghav, R., H. Sivaraman, D.V. Gohale and B. Seetaramarao. 1989. Ethanolic fermentation of cane molasses by a highly flocculent yeast. *Biotech. Letters* **11**: 739-744.
2. Ghose, T.K. and R.D. Tyagi. 1979. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. I. Batch versus continuous system. *Biotechnol. Bioeng.* **21**: 1387-1400.
3. Cysewski, G.R. and C.R. Wilke. 1976. Utilization of cellulose materials through enzymatic hydrolysis. I. Fermentation of hydrolysate to ethanol and single-cell protein. *Biotechnol. Bioeng.* **18**: 1297-1313.
4. Cysewski, G.R. and C.R. Wilke. 1977. Rapid ethanol fermentation using vacuum and cell recycle. *Biotechnol. Bioeng.* **19**: 1125-1143.
5. Bijkerk, A.H. and R.J. Hall. 1977. A mechanistic model of the aerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Bioeng.* **19**: 267-296.
6. Hiroshi, N., T. Tetsuo and F. Saburo. 1976. Induction of floc-forming ability in brewer's yeast. *J. Ferment. Technol.* **54**(6): 356-360.
7. Karnjanasiriwan. 1989. Continuous alcohol fermentation by a tower fermentor with cell recycle using flocculating yeast strain. *Korean J. Biotech. Bioeng.* **4**: 11-14.
8. Limtong. 1984. Continuous ethanol production by a concentrated culture of flocculating yeast. *J. Ferment. Technol.* **62**: 55-62.
9. Mariorella, B.L., H.W. Blanch and C.R. Wilke. 1984. Biotechnology report: Economic evaluation of alternative ethanol fermentation process. *Biotechnol. Bioeng.* **26**: 1003-1025.
10. Lee, K.J., M.L. Skotnicki, D.E. Tribe and P.L. Rogers. 1981. The effect of temperature on the kinetics of ethanol production by strains of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnol. Letters* **3**: 291-296.
11. Kenji, K., M. Yamadaki. 1989. The effect of aeration on stability of continuous ethanol fermentation by a flocculatory yeast. *J. Ferment. Bioeng.* **2**: 107-111.
12. 木田建次, 森村茂. 1987. Continuous fermentation in brewer's yeast. *Japanese J. of Ferment. Technol.* **65**: 27-35.
13. Kuriyama, H. and Y. Seiko. 1985. Continuous ethanol fermentation with cell recycling using flocculating yeast. *J. Ferment. Technol.* **63**: 159-165.
14. Prince, I.G. and J.P. Banford. 1982. Induced flocculating of yeasts for use in the tower fermentor. *Biotechnol. Letters* **4**: 621-626.
15. J.H. Lee, D. Williamson and P.L. Rogers. 1980. The effect of temperature on the kinetics of ethanol production by *Saccharomyces uvarum*. *Biotechnol. Letters* **2**: 83-88.

(Received September 19, 1992)