

한지자숙폐액을 이용한 *Saccharomyces cerevisiae*의 배양

†이 형 춘

서원대학교 식품영양학과

(접수 : 2000. 5. 22., 게재승인 : 2000. 6. 17.)

Cultivation of a *Saccharomyces cerevisiae* in a Korean Paper Digestion Wastewater

Hyeong Choon Lee†

Dept. of Food and Nutrition, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea

(Received : 2000. 5. 22., Accepted : 2000. 6. 17.)

A *Saccharomyces cerevisiae* isolated from a feed additive yeast product was cultivated in a Korean paper digestion wastewater in order to investigate the possibility of using it as substrate for the yeast. The yeast couldn't grow in the wastewater. It could grow in the wastewater diluted and the optimum dilution rate was 7.5. In batch cultivation with the jar fermenter the maximum total cell count was 1.34×10^7 /mL and the maximum viable cell count was 1.1×10^7 /mL. The deigestion wastewater undiluted was added during the cultivation of the yeast in the diluted wastewater media in order to increase cell density. The highest total cell count of 8.2×10^7 /mL was obtained by the addition of undiluted digestion wastewater. By adding $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and KH_2PO_4 together with the undiluted wastewater, the maximum cell concentration could be obtained faster.

Key Words : Korean paper digestion wastewater, *Saccharomyces cerevisiae*, cultivation

서 론

한지는 다펜 나무 껍질을 자숙, 세척, 탈색, 제진, 고해, 초지 등의 과정으로 처리하여 만든다(1). 자숙과정에서는 일반적으로 NaOH를 사용하며, 알칼리제인 NaOH는 다펜 나무껍질의 lignin을 alkalilignin으로 만들어 용출시키고, hemicellulose를 가수분해시켜 당류와 그 밖의 물질로 변화시킨다(1). 또한, 비섬유질외에 cellulose의 일부가 가수분해되어 당이 용출될 수도 있다. 따라서 자숙폐액중에는 당류를 비롯하여 여러 가지 미생물의 영양성분이 존재할 수 있으므로, 자숙폐액을 미생물증식의 유용한 기질로 재이용할 수 있다고 생각되었다. 한지자숙폐액과 유사한 폐액인 sulfite waste liquor의 경우 미생물균체(2-5)의 생산기질로 사용되었으며, 기타 ethanol, furfural, acetic acid, formic acid 및 vanillin 등의 발효산물의 기질로 사용되었다(6).

사료첨가효모제는 사료에 첨가하는 생균제(7)의 일종으로서 사료의 관능성을 향상시키고 가축의 소화를 돕기 위한 것으로

*Saccharomyces cerevisiae*종이 주로 사용되며, 균수가 그다지 높지 않아도 된다. 따라서, 이 효모가 한지자숙폐액에서 어느 정도 증식하면 한지자숙폐액을 사료첨가효모제의 배양기질로 재이용할 수가 있다. 또한 효모를 배양한 자숙폐액은 효모를 따로 수거하지 않고 그대로 첨가제를 첨가하고 분말화시켜서 제품화할 수도 있기 때문에 한지제조공정중의 주요한 폐수인 자숙폐액의 처리비용을 상당히 절감할 수 있을 뿐만 아니라 폐액 재이용으로 부가가치를 창출할 수 있다는 장점이 있다.

이러한 관점에서, 한지자숙폐액에 사료첨가효모제로부터 분리한 *Saccharomyces cerevisiae*종을 배양하여 한지자숙폐액의 재이용성을 검토하는 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

사용균주

균주는 C사(경기도 안산시 소재)의 사료첨가용 건조효모제품으로부터 yeast extract malt extract agar media(YM 한천배지)를 분주하여 고화시킨 평판배지를 사용하여 순수분리한 *Saccharomyces cerevisiae*종을 사용하였다.

폐 액

한지자숙폐액은 D사(충청북도 단양군 소재)의 자숙폐액을 이

†Corresponding Author : Department of Food and Nutrition, Seowon University, 231, Mochung-dong, Cheongju 361-742, Korea
Tel & Fax : 0431-261-8744
E-mail : hlee@seowon.ac.kr

용하였다. 이 폐액은 자숙탱크에 물 약 0.5 m³를 부은다음 탁나 무겉질 60 Kg과 NaOH(대원화학공업(주), 98%) 20kg을 넣고 약 2시간 자숙시키는 과정에서 생성된 폐액으로서, BOD 24,000 ppm, COD 24,000 ppm, SS 8,300 ppm으로 분석되었으며, pH 13.3인 강알칼리성 폐수였다.

배양액

자숙폐액원액 또는 증류수로 희석한 희석액을 HCl 또는 H₂SO₄를 사용하여 pH 4.0으로 조정하고 No.5C 여과지로 여과한 후 배양액으로 사용하였다.

배양방법

Flask배양의 경우에는 250 mL 삼각flask에 폐액배양액 50 mL를 넣고 고압멸균한 후, YM한천평판배지상에서 48시간 증식시킨 균 1백급이를 접종한 다음, 30℃, 180rpm의 조건으로 진탕배양하였다. Jar fermenter배양의 경우에는 5L jar fermenter(한국발효기, KFC-5L)에 자숙폐액원액을 7.5배 희석하고 H₂SO₄로 pH 4.0으로 조정후 여과한 폐액배양액 2.7 L를 넣고 고압멸균한 후, 동일한 폐액배양액의 flask배양액 300ml를 접종하여 배양하였다(접종량 10%). 배양온도는 30℃로 유지하였고, pH는 pH제어기(한국발효기, mk-250)를 사용하여 4N HCl과 4N NaOH를 배양기간동안 자동적으로 공급함으로써 4.0으로 제어하였다. DO%는 70%이상으로 유지하였으며, 소포제는 실리콘소포제(한국다우코닝, LS-300)를 사용하였다.

균증식도의 측정

총균수는 haemacytometer (Brand, Neubauer improved)로 측정하였다. 생균수는 배양액 1 mL를 생리식염수로 10진희석법으로 희석한 희석액 0.1 mL씩을 YM 평판배지상에 도말하고, 30℃로 48시간 배양후 생성된 colony를 계수하여 측정하였다.

자숙폐액원액 및 자숙폐액희석액의 분석

자숙폐액원액의 BOD, COD 및 SS는 standard methods에 의하여 측정하였다. 자숙폐액원액을 7.5배 희석하고 H₂SO₄로 pH 4.0으로 조정후 여과한 액에 대하여 환원당, NH₄-N 및 11종의 무기원소성분을 분석하였다. 이 중 환원당은 Somoghi법으로 분석하였으며, NH₄-N은 ammonia전극(Orion, 95-12)으로 측정하였고, 무기원소성분은 ICP(Jobin-Yvon, JY 138 Plus)로 분석하였다.

결과 및 고찰

자숙폐액원액에의 배양

자숙폐액원액에 HCl을 첨가하여 pH 4.0으로 조정하고 여과한 배양폐액에 균을 24시간 flask배양후 배양전후의 총균수를 측정하여 서로 비교한 결과는 Figure 1과 같다. 그림에서와 같이 배양후의 총균수는 1.2×10⁵/mL이었으며, 배양전의 2.7×10⁵/mL보다 오히려 2배이상 감소하였다. 자숙폐액에는 알칼리에 의해 당이나무로부터 분해 용출된 당등 유기물질이 상당량 함유되어 있을 가능성이 높으므로 균의 감소가 균증식에 필요한 영양성분의 결핍때문은 아닐 것이라 생각되었다. 오히려 높은 농도의 용해성분에 기인하는 삼투압에 의한 영향일 가능성이 높다고 생각되었다. 만약 삼투압 때문에 균이 증식하지 못하는 것이라면, 자숙폐

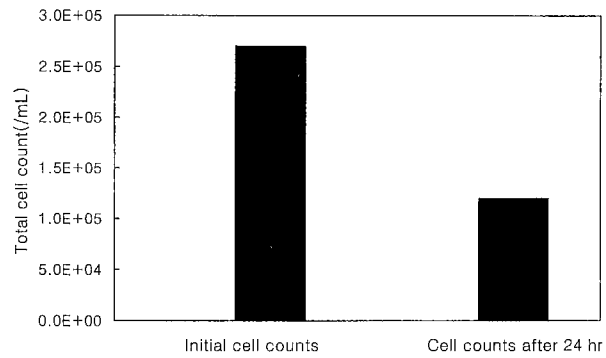


Figure 1. Comparison of initial cell counts and cell counts after 24 hr in the flask cultivation of a *Saccharomyces cerevisiae* in a Korean paper digestion wastewater at 30℃ and 180 rpm (The wastewater was adjusted to pH 4.0 with HCl and filtered).

액을 희석하여 삼투압을 저하시킬 경우에도 유기물이 어느정도 함유하면 균을 증식시킬 수 있다고 생각되었다.

자숙폐액희석액에의 배양

따라서, 자숙폐액을 희석한 폐액배양액을 사용하여 flask배양한 결과를 Figure 2에 나타내었다. 그림에서와 같이 5, 10, 20, 50 및 100배로 희석한 폐액배양액의 초기총균수는 각각 3.6×10⁵/mL, 3.4×10⁵/mL, 2.7×10⁵/mL, 3.7×10⁵/mL 및 3.3×10⁵/mL 이었고, 24시간후의 총균수는 각각 3.0×10⁷/mL, 5.3×10⁶/mL, 3.2×10⁶/mL, 1.3×10⁶/mL 및 6.0×10⁵/mL 이었다. 희석배수별 24시간배양후 총균수를 비교할 때, 모든 희석배수에서 증식을 보였으며, 5배희석시 최대증식을 나타내었고, 100배희석시 최소 증식을 나타내었다. 이는 희석으로 증식저해요인은 제거되었으나 효모의 영양성분은 여전히 존재하기 때문이라고 생각되었다. 희석배수가 커질수록 증식도가 저하한 것은 희석배수에 비례하여 영양성분의 농도가 낮아지기때문이라 생각되었다. 이러한 결과로 볼 때, 희석배수 10배이하에서 희석배수를 더욱 세밀하게 할 경우 5배희석의 경우보다 더 큰 증식을 보이는 희석배수를 탐색할 수 있다고 생각되었다.

따라서, 희석배수 10배이하에서 희석배수를 2.5배간격으로 하여 flask배양한 결과는 Figure 3과 같다. 그림에서와 같이 2.5, 5.0, 7.5 및 10.0배로 희석한 폐액배양액의 초기총균수는 각각 9.0×10⁵/mL, 1.7×10⁶/mL, 1.4×10⁶/mL 및 9.0×10⁵/mL 이었고,

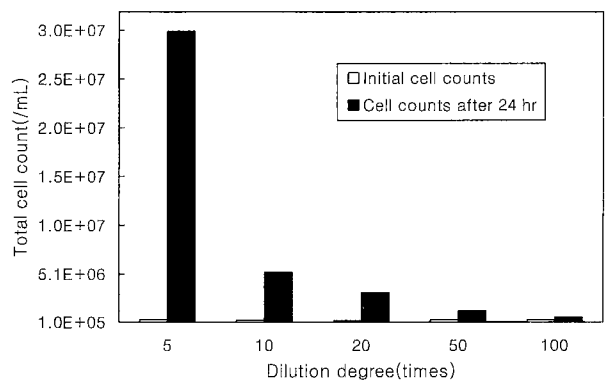


Figure 2. Comparison of yeast cell counts after 24 hr cultivation in wastewaters having different dilution degrees (The wastewater was diluted with distilled water, adjusted to pH 4.0 with HCl and filtered).

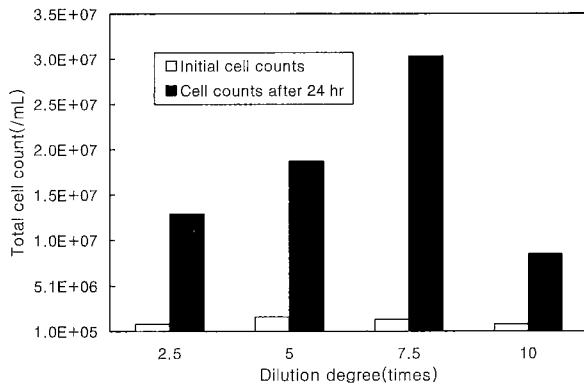


Figure 3. Comparison of yeast cell counts after 24 hr cultivation in wastewaters having different dilution degrees (The wastewater was diluted with distilled water, adjusted to pH 4.0 with HCl and filtered).

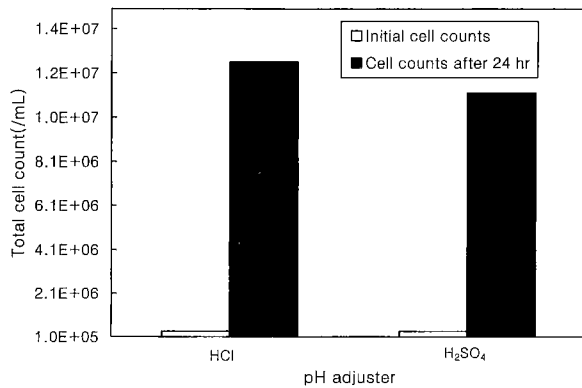


Figure 4. Comparison of yeast cell counts after 24 hr cultivation in wastewaters adjusted to pH 4.0 with HCl and H₂SO₄ (dilution degree 7.5times).

24시간후의 총균수는 각각 1.3×10^7 /mL, 1.9×10^7 /mL, 3.0×10^7 /mL 및 8.6×10^6 /mL 이었다. 7.5배 희석까지는 희석배수가 증가함에 따라 증식도가 증가하였고, 10배희석에서는 7.5배희석보다 증식도가 낮았다. 이 것은 7.5배이상 희석할 경우 증식저해요인의 저해작용은 거의 해소되나, 희석도가 커질수록 영양성분의 농도는 낮아지기 때문이라 생각되었다.

HCl을 pH조정제로 사용한 경우와 H₂SO₄을 pH조정제로 사용한 경우의 증식도를 비교하기 위하여 양쪽의 경우에 동일하게 7.5배로 희석한 자숙폐액의 pH를 HCl과 H₂SO₄로 조정된 폐액배양액으로 flask배양실험을 수행하여 비교한 결과는 Figure 4와 같다. 그림에서와 같이 HCl과 H₂SO₄의 경우 폐액배양액의 초기 총균수는 각각 3.6×10^5 /mL 및 3.5×10^5 /mL이었고, 24시간후의 총균수는 각각 1.3×10^7 /mL 및 1.1×10^7 /mL로 나타났다. HCl의 경우가 다소 높게 얻어졌으나, 큰 차이는 아니었으므로 H₂SO₄를 pH조정제로 사용하는 것이 경제적으로 더 바람직하다고 생각되었다. 따라서, 이후의 실험에서는 폐액배양액의 희석배수는 7.5 배로 하였고, pH조정제는 H₂SO₄를 사용하였다.

발효조배양

대량배양할 경우의 증식양상을 알아보기 위하여 jar fermenter를 사용하여 배양한 결과를 Figure 5에 나타내었다. 그림에서와 같이 총균수는 초기 1.1×10^6 /mL로부터 7시간까지 증식을 보이

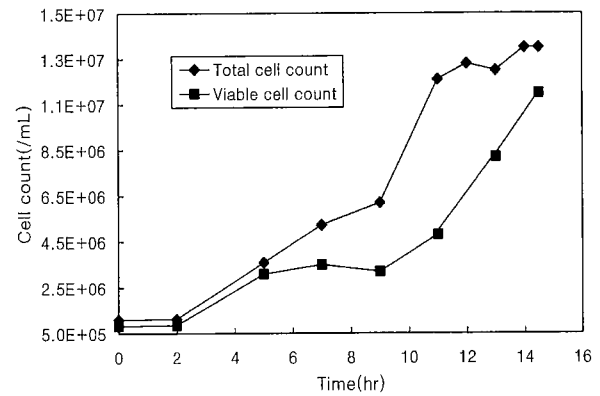


Figure 5. Cultivation in 5 L jar fermenter (working volume 3.0 L, inoculum size 10%, temperature 30°C, pH controlled to 4.0 and Do maintained over 40%)

다가 7시간에서부터 9시간사이에 증식이 둔화되어 정상가로 들어가는 양상을 보였으나, 9시간부터 증식이 재개되어 배양 14시간에 최대 1.34×10^7 /mL에 도달하였다. 효모의 증식이 이처럼 diauxic growth의 양상을 나타낸 것은 효모가 최소 2가지 이상의 당을 이용하여 증식했기 때문이라고 생각되었으나, 증식 경과에 따른 폐액배양액의 당성분등의 분석에 의해 확인되어야 할 것이다. 총균수의 최대값은 flask배양의 경우보다는 약간 높게 얻어졌다. 생균수의 경우에는 초기 8.2×10^5 /mL로부터 총균수의 경우보다 더욱 선명한 diauxic growth의 양상을 보이면서 증식하여 14.5시간에 최대 1.1×10^7 /mL에 도달하였다.

자숙폐액원액과 영양성분의 첨가에 의한 배양

발효조배양에서 총균수의 최대치가 1.34×10^7 /mL로 얻어졌으나, 한지자숙폐액의 미생물학적 제이용성을 높이기 위해서는 증식도를 더 증가시킬 필요가 있다고 생각되었다. 따라서, 증균방법을 고안하기 위한 기초적인 판단자료를 얻을 목적으로 7.5배 희석액의 성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 표에서와 같이 Na함량이 2700 mg/L로써 특히 높았는데, 이 것은 닳나무 껍질을 자숙하기 위해 사용한 NaOH에 기인하는 것이다. 따라서, 자숙원액의 Na농도는 약 20,000 mg/L (2.0%)이상으로 추정되었고, 원액에서 효모균체가 증식할 수 없었던 것은 주로 Na와 기타 용존성 물질들에 의해 야기되는 높은 삼투압 때문이라 생각되었으나, 더 구체적인 보충실험으로 확인되어야 할 것이다.

효모가 자숙폐액원액에서 증식하지 못하는 것이 삼투압 때문이라면 희석배양액중에서 효모가 증식하는 동안에 배양액중에 용해되어 있던 용존영양성분이 효모의 균체로 전환되므로 그만큼 배양액의 삼투압은 저하한다. 따라서, 배양중에 자숙폐액원액을 더 첨가할 수 있다고 생각되었으며, 그에 따라 영양성분이 보충되어 최대균체농도를 증가시킬 수 있다고 생각되었다. O'Connor(8)에 근거하여 계산하면, 7.5배 희석액의 성분중 미량 원소인 Cu, Co, Mn, Zn 및 Mo를 제외한 나머지 성분들중 환원당, NH₄-N, P 및 Fe는 1 g/L의 균체합성에도 부족한 양이었다. 그러나, 자숙폐액원액의 경우에는 환원당을 제외한 NH₄-N, P 및 Fe의 경우, 최소 4 g/L이상의 균체를 합성할 수 있는 양으로 추정되었다. 이러한 관점에서 희석배양액으로 배양하는중에 자숙폐액원액을 첨가하여 균수를 증가시키는 flask배양실험을 수행하였다.

먼저 효모가 충분히 증식하여 최대균체수 및 정상기에 도달하였다고 생각되는 19시간에 자숙폐액원액을 각각 1 mL, 5 mL 및 10 mL를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우를 비교하여 Figure 6에 나타내었다. 그림에서와 같이 첨가하지 않은 경우에는 초기총균수 2.3×10^5 /mL에서 증식하여 19시간에 2.6×10^7 /mL를 나타내었으며, 그 이후 거의 증식을 보이지 않았고, 최대총균수는 48시간의 2.9×10^7 /mL이었다. 반면에, 자숙폐액원액을 각각 1 mL, 5 mL 및 10 mL 첨가한 경우에는 초기총균수 2.5×10^5 /mL, 3.3×10^5 /mL 및 3.0×10^5 /mL로부터 증식하여 19시간에 2.3×10^7 /mL, 2.8×10^7 /mL 및 2.7×10^7 /mL였고, 19시간이후에도 계속 증식하여 60시간에 각각 5.8×10^7 /mL, 6.9×10^7 /mL 및 7.8×10^7 /mL로써 첨가하지 않은 경우보다 각각 2.0배, 2.4배 및 2.7배 높았다. 따라서, 자숙폐액원액의 첨가로 균체농도를 높일 수 있음을 알았으며, 이는 효모의 증식으로 배양액중 용존성분이 소비되는 결과 삼투압이 저하하므로 첨가된 자숙폐액에 의해 삼투압이 증가하더라도 크게 저해받지 않고 더욱 증식한 결과라 생각되었다. 10 mL첨가의 경우 균체농도가 가장 높은 것은 균의 증식으로 삼투압의 저해영향이 충분히 해소된 상태에서 영양 성분이 가장 많이 공급되었기 때문이라고 생각되었다.

자숙폐액원액을 정상기에 도달하기 전에 더 이르게 첨가할 경

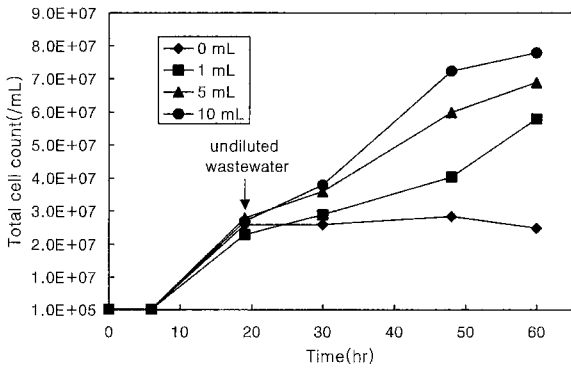


Figure 6. Effect of adding undiluted wastewater to the wastewater media on yeast growth (The undiluted wastewaters of 1 mL, 5 mL and 10 mL were added at 19 hr. The pH of both media and undiluted wastewater were adjusted to 4.0).

우 최대균체농도에 도달하는 시간이 단축될 수도 있다는 판단하에 배양후 13시간에 자숙폐액원액을 첨가한 경우의 배양결과를 Figure 7에 나타내었다. 그림에서와 같이 첨가하지 않은 경우에는 초기총균수 4.8×10^5 /mL에서 증식하여 24시간에 2.2×10^7 /mL로 최대총균수를 나타내었으며, 이후 증식을 보이지 않았다. 자숙폐액원액을 각각 1 mL, 5 mL 및 10 mL 첨가한 경우에는 초기총균수 5.2×10^5 /mL, 5.6×10^5 /mL 및 5.0×10^5 /mL로부터 증식하여 13시간에 9.1×10^6 /mL, 8.1×10^6 /mL 및 7.8×10^6 /mL이었고, 이후 그림에서와 같은 증식양상을 나타내었으며, 50시간까지의 증식결과중 최대총균수는 각각 3.7×10^7 /mL, 4.3×10^7 /mL 및 3.2×10^7 /mL로써 첨가하지 않은 경우보다 각각 1.7배, 2.0배 및 1.5배 증가하였다. 19시간에 첨가한 경우에는 첨가한 경우의 최대총균수가 첨가하지 않은 경우보다 최대 2.7배까지 높았으나, 13시간에 첨가한 경우에는 최대 2.0배에 불과하였다. 또한, 10 mL 첨가한 경우의 최대총균수가 1 mL 첨가한 경우보다도 오히려 더 낮았다. 이 것은 균이 충분히 증식하기 전에 첨가할 경우 희석 배양액의 삼투압이 충분히 저하하지 않은 상태이기 때문에 자숙폐액원액의 첨가로 삼투압의 증가에 의한 저해영향이 증가하며, 원액의 첨가량이 많아지면 저해영향도 커지기 때문이라고 생각 된다.

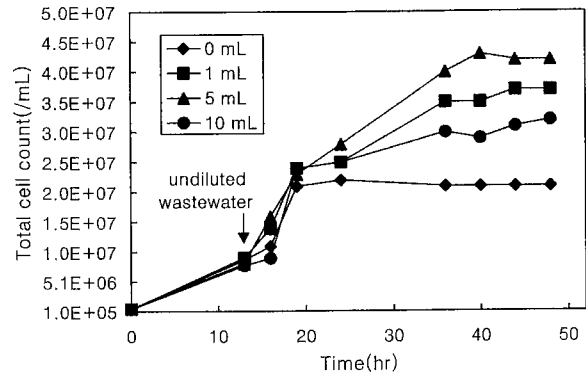


Figure 7. Effect of undiluted wastewater added to the media before reaching the stationary phase on yeast growth (The undiluted wastewaters were added at 13hr).

Table 1. Chemical composition of Korean paper digestion wastewater*

Compositions	Concentration (mg/L)
Reducing sugar	27.9
NH ₄ -N	18.2
P	12.9
Mg	17.7
K	391
Na	2700
Ca	125
Fe	0.166
Cu	0.047
Co	0.024
Mn	trace amount
Zn	0.05
Mo	trace amount

*diluted with distilled water(dilution degree 7.5 times), adjusted to pH 4.0 with H₂SO₄ and filtered.

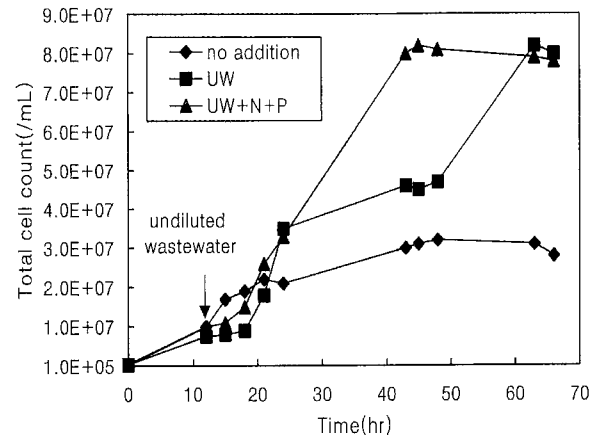


Figure 8. Effect of nutrients and undiluted wastewater addition on yeast growth (The undiluted wastewaters were added at 12 hr, and N and P were added from the beginning. UW: 10 mL undiluted wastewater, N: 0.1 g (NH₄)₂SO₄, P: 0.1 g KH₂PO₄).

질소원과 인원은 탄소원 다음으로 균증식에 많이 필요한 영양 성분들이다. 그러나, 자숙폐액중에 이들 성분이 적게 들어있는 것으로 나타났으므로 배양중에 첨가되는 자숙폐액원액에 의해서도 충분히 공급되지 못할 경우 한계영양원이 될 수 있다는 판단하에 자숙폐액원액과 질소와 인을 동시에 첨가하는 실험을 수행하여 균증식에 대한 질소와 인의 영향을 알아보고자 하였다. 이러한 관점에서 아무것도 첨가하지 않은 경우와 자숙폐액원액 10 mL만을 12시간에 첨가한 경우와 질소원인 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 인원인 KH_2PO_4 를 각각 0.1 g씩 처음부터 첨가하고 자숙폐액원액 10 mL을 12시간에 첨가한 경우의 배양결과를 비교한 것을 Figure 8에 나타내었다. 그림에서와 같이 무첨가의 경우에는 초기총균수 $5.0 \times 10^7/\text{mL}$ 로부터 증식하였으며, 최대총균수는 48시간의 $3.2 \times 10^7/\text{mL}$ 였다. 자숙폐액원액을 첨가한 경우에는 초기총균수 $4.0 \times 10^7/\text{mL}$ 로부터 증식하여 12시간에 $7.6 \times 10^6/\text{mL}$ 를 나타내었고, 원액첨가후 계속 증식하여 43시간에 $4.6 \times 10^7/\text{mL}$ 에 도달하여 증식이 정체되는 듯 하였으나, 증식이 재개되어 63시간에 $8.2 \times 10^7/\text{mL}$ 에 도달하였다. 자숙폐액원액과 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 및 KH_2PO_4 를 첨가한 경우에는 초기총균수 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$ 로부터 증식하여 12시간에 $1.0 \times 10^7/\text{mL}$ 를 나타내었고, 원액첨가후 계속 증식하여 48시간에 최대총균수인 $8.2 \times 10^7/\text{mL}$ 에 도달하였다. 따라서 자숙폐액원액을 첨가한 두가지 경우 모두 무첨가의 경우보다 최대총균수가 2.6배 증가하였다. 자숙폐액원액만 첨가한 경우와 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 및 KH_2PO_4 까지 첨가한 경우가 최대균체농도가 같게 얻어진 것은 자숙폐액만 첨가한 경우에도 질소원과 인원은 균 증식의 한계영양원이 되지 않기 때문이라고 생각되었다. 다만, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 및 KH_2PO_4 까지 첨가한 경우가 더 빠르게 최대균체농도에 도달하였는데, 이 것은 균이 질소원으로써 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 인원으로써 KH_2PO_4 를 폐액에 함유된 질소원과 인원의 형태보다 더 잘 이용할 수 있기 때문이라 생각되었다. 따라서, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 KH_2PO_4 같은 질소원과 인원의 첨가로 생산성을 높일 수 있다고 생각되었다. 자숙폐액만을 첨가한 경우의 결과에 따르면 Figure 7의 실험에서도 48시간이상 계속 배양할 경우 자숙폐액을 첨가한 경우에는 균이 더욱 증식할 수 있다고 생각되었다.

자숙폐액원액의 첨가로 균체농도를 증가시킬 수 있다는 것은 확실하게 판명되었으나, 삼투압등의 저해요인의 저해를 받지 않으면서 균의 영양요구를 충족시키는 방법으로 자숙폐액원액을 적정하게 첨가한다면 균체농도를 더욱 높일 수 있다고 보며, 자숙폐액원액의 적정첨가방법에 대한 연구가 필요하다고 생각되었다. 적정첨가방법으로써 가능한 것은 균의 활성을 on-line으로 측정하여 균의 활성이 어느 정도 이상으로 유지되도록 제어하면서 자숙폐액을 첨가하는 것이다. 균활성의 측정방법은 여러가지가 있으나, 간단하고도 신뢰성이 있으며, 무리없이 scale-up할 수 있는 방법이 발효조 출구의 개스분석에 의해 산소섭취속도(OUR)(9-11), 이산화탄소 방출속도(CER)(10,12-14) 또는 호흡율(RQ)(15-18)등을 측정하는 것이다. 더 나아가서는 배양액의 Na 농도를 control parameter로 사용할 수도 있다고 생각된다.

요 약

한지자숙폐액을 사료첨가효모의 생산기질로 재이용할 수 있는 기를 검토하기 위하여 사료첨가효모제품으로부터 분리한 *Saccharomyces cerevisiae*종을 한지자숙폐액에 배양하였다. 자숙폐액원

액에서는 균이 증식하지 못하였으나, 희석액에서는 증식하였으며, 증류수로 7.5배 희석시 최대증식을 보였다. Jar fermenter배양에서의 최대총균수는 $1.34 \times 10^7/\text{mL}$ 이었으며, 최대생균수는 $1.1 \times 10^7/\text{mL}$ 이었다. 배양액의 균체농도를 증가시키기 위하여 배양중에 자숙폐액원액을 첨가하여 총균수를 최대 $8.2 \times 10^7/\text{mL}$ 까지 증가시킬 수 있었다. 자숙폐액원액과 함께 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 및 KH_2PO_4 까지 첨가함으로써 최대균체농도에 도달하는 시간을 단축시킬 수 있었다.

REFERENCES

1. Chun, C. (1996), Theory and Practice of Making Korean Paper, p 87, Won Kwang University, Iri.
2. Nose, Y. (1981), Cell Mass Production, In *Biomass: Production and Conversion (II)*, K. Sibata and S. Kitani, Eds., p. 52-53, GakuKai Syuppan Center, Tokyo.
3. Demain, A. L. and N. A. Solomon (1986), Manual of industrial microbiology and biotechnology, p127, American Society for Microbiology, Washington D. C..
4. Präve, P., U. Faust, W. Sittig, and D. A. Sukatsch (1987), Fundamentals of Biotechnology, p617, VCH, Weinheim.
5. Lo, S. N. and J. R. Moreau (1986), Mixed-Culture Microbial Protein from Waste Sulfite Pulping Liquor II: Its Production on Pilot-Plant Scale and Use in Animal Feed, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, **64**, 639-646.
6. Rousseau, S., D. Rouleau, L. Yerushalmi, and R. C. Mayer (1992), Effect of Temperature on Fermentation Kinetics of Waste Sulfite Liquor by *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **53**, 285-291.
7. Yoon, H. S., W. J. Maeng, H. T. Shin, Y. K. Kim, and T. S. Koh (1996), Animal Nutrition, p275, Hyang Mun Sa, Seoul.
8. O'Conner, G. M., F. Sanchez-Riera, and C. L. Cooney (1992), Design and Evaluation of Control Strategies for High Cell Density Fermentations, *Biotech. Bioeng.*, **39**, 293-304.
9. Ramirez, A., A. Durand, and H. T. Blachere (1981), Optimal Baker's Yeast Production in Extended Fed-Batch Culture by Using a Computer Coupled Pilot Fermenter, *Biotechnology Letters*, **3**(10), 555-560.
10. Shimiz N., Y. Odawara, and K. Kanto (1992), Production of Streptomycin Using Computer-Controlled Fermentor: Addition of Glucose with Oxygen Uptake Rate and/or Carbon Dioxide Evolution Rate Monitoring, *J. Ferment. Bioeng.*, **74**(1), 64-66.
11. Yoon, S. J. and K. B. Konstantinov (1994), Continuous, Real-Time Monitoring of the Oxygen Uptake Rate(OUR) in Animal Cell Bioreactors, *Biotech. Bioeng.*, **44**, 983-990.
12. Chang Y. K. and H. C. Lim (1989), Fast Inferential Adaptive Optimization of a Continuous Yeast Culture Based on Carbon Dioxide Evolution Rate, *Biotech. Bioeng.*, **35**, 8-14.
13. Schugerl, K. (1991), Methods and Instruments in Fermentation Gas Analysis, In *Biotechnology: Measuring Modelling and Control Vol.4*, H. J. Rehm and G. Reed, Eds., p. 30, VCH, Weinheim.
14. Pons, M. N. (1992), Bioprocess Monitoring and Control, p. 181, Hanser Publishers, Munich.
15. Wang, H. Y., C. L. Cooney, and D. I. C. Wang (1977), Computer-Aided Bakers Yeast Fermentations, *Biotech. Bioeng.*, **19**, 69-86.
16. Whaitte, P., S. Aborhey, E. Hong, and P. L. Rogers (1978), Microprocessor Control of Respiratory Quotient, *Biotech. Bioeng.*, **20**, 1459-1463.

17. Wang, H. Y., C. L. Cooney, and D. I. C. Wang (1979), Computer-control of Bakers Yeast Production, *Biotech. Bioeng.*, **21**, 975-995.
18. Shimizu, N., T. Sumitani, and Y. Odawara (1984), Computer Control of Fermentation Processes, *Biotechnology and Bioengineering Symp.* No. 14, 681-691.