

효모 고정화용 세라믹 담체의 개발

†이 올 락 · ¹박 상 재
대전산업대학교 화학공학과, ¹두산 인재기술개발원
(접수 : 2000. 5. 23., 게재승인 : 2000. 6. 20.)

Development of Ceramic Media for Yeast Immobilization

Youl-Lark Lee† and Sang-Jae Park¹

Department of Chemical Engineering, Taejon National University of Technology, Taejon 300-717, Korea

¹Doosan Technical Center, 39-13 Sungbok-Ri, Suji-Yub, Yongin-Si, Kyunggi-Do 449-840, Korea

(Received : 2000. 5. 23., Accepted : 2000. 6. 20.)

Support media for yeast immobilization was prepared from a porous volcanic rock used as a moisturizer in orchid growing. The rock was broken to the size of 2-3 mm and burned at 600°C in a furnace in order to remove organic materials blocking the pores or treated with HCl solution or NaOH solution to remove the inorganic dirt by dissolving. Even though both the acid and the alkali solution were effective, the latter was not recommendable because it broke the pore structure by dissolving the elements of the media. This media was mainly consisted of SiO₂ with Al₂O₃ as a minor component and CaO and K₂O as trace elements. It had the finely developed pores of 15~80 μm size. Yeast immobilization capacity of this media was about 5×10⁸ cells/ml bed, which is large enough to be used for the practical applications. Yeast immobilization capacities of Alumina and Cordierite were much smaller than that of silica-based media. Scanning electron micrograph of Cordierite and Alumina showed uneven surfaces and small size of pores in contrast to relatively smooth surface and large pores of silica based media, which means that smooth surface and large pores are desirable for the good adsorption of microbes on the media.

Key Words : yeast immobilization, immobilization media, silica

서 론

효모의 고정화는 70년대 말 연료용 에탄올의 생산에 관한 연구가 진행되면서 여러 종류의 담체를 대상으로 시도되어 왔다(1). 연구결과 다양한 담체가 개발되면서 에탄올의 발효외에도 soy sauce (2-4), wine (5), 청주(6), vinegar (7), glycerol (8) 등의 생산에 관한 응용도 시도되었다. 효모를 고정화하는 담체는 유기체, 무기체로 대별할 수 있다. 유기체 담체는 polymer를 효모와 혼합한 후 Ca²⁺, Mg²⁺ 등의 금속이온에 의한 가교를 형성하는 방식인 alginate (9-11), 개시제를 가하여 중합하는 방식인 acrylamide copolymer, 정전기적 인력에 의해 표면에 흡착시키는 방식의 cellulose 담체 등을 예로 들 수 있다(12). 이 외에 chitosan 원료의 담체(13) 등 여러가지가 시험되었다. 무기체 담체로는 silica (14,15), alumina (16), celite (17), Kissiris (18,19),

Kieselguhr (20) 등이 주로 이용되어 왔다. 이들 무기체 담체는 유기체 담체에 비해 미생물과의 친화력이 적으므로 이를 증가시키기 위해 ζ-전위의 측정 및 표면처리에 의한 관능기의 도입에 관한 연구가 행해졌다(21,22). 식품공정에서 효소 또는 미생물의 고정화용 담체로서 요구되는 조건은 식품위생상의 안전성이다. 특히 담체성분의 용출이 전혀 없어야 한다. 따라서 화학적 안정성이 필수조건이다. 무기체의 담체는 용출 면에 있어서는 유기체 담체에 비해 유리하다고 볼 수 있다. 그러나 생물 친화성의 측면에서는 유기체 담체가 유리하다. 생물친화력이 상대적으로 떨어지는 세라믹 담체를 고정화에 이용하기 위해서는 세포의 고정화 및 증식이 용이하도록 재료내부와 표면에 적절한 기공구조를 만들어주어야 하며 대규모 생산시설에 이용할 수 있도록 기계적 강도가 높아야 하는 등의 조건이 필요하다(23). 세라믹 재료는 화학적으로 안정하여 식품공정에서 사용시 담체성분의 용출이 거의 없어서 식품 안전성 면에서 우수할뿐만 아니라 내열성, 내구성이 우수하여 유기체료가 가지는 약점을 극복할 수 있다. 세라믹 담체를 이용한 미생물 배양 뿐 아니라 동물세포 및 식물세포의 배양에 관한 연구사례도 많다(24,25).

지금까지 개발된 대부분의 세라믹 담체의 재료는 크게 알루미

†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,
Taejon National University, Taejon 300-717, Korea
Tel : 042-630-0447, Fax : 042-630-0436
E-mail : yllee@hyunam.tnut.ac.kr

나와 실리카의 두 부류로 나눌 수 있는데 일부는 알루미늄과 실리카가 적정비율로 혼합된 경우도 있다. 주로 소다유리틀 원료로하는 실리카 담체는 800°C 정도의 온도에서 소결시켜 제조하나, 알루미늄 원료의 담체는 1300°C 이상의 고온에서 소결하여 만든다. 대체로 세라믹 담체는 원재료 비용, 성형 및 소결공정 비용 등의 측면에서 상업적으로 사용하는데 아직 무리가 있는 실정이다.

본 연구에서는 세라믹 담체의 이러한 단점을 극복하기 위해 값싸고, 쉽게 구할 수 있는 자연석을 활용하여 고정화용 담체를 개발하고자 하였다. 자연석으로는 동양란동의 화분용 보습제로 주로 사용되는 다공성 화산석을 사용하였다. 자연상태의 난석은 다공성이긴 하나 기공은 많은 유기, 무기물로 막혀있는 상태로 이를 생체 고정화용 담체로 사용하기 위해서는 기공내의 이물질을 제거하고 입도를 사용에 적절한 크기로 조절할 필요가 있다. 본 연구에서는 화분석을 열, 산, 알칼리등으로 처리 하고 무게 측정, 전자현미경 촬영 등을 통하여 그 과정을 관찰하였다. 이를 통하여 만들어진 담체의 실제 효모 고정화능력을 국내 기업에서 개발한 세라믹 담체와 이미 상품화되어 있는 외국기업의 담체의 고정화 능력과 비교 분석하여 이들의 실용가능성을 조사하였으며 효모 고정화를 위한 세라믹 담체의 요건에 대해서도 검토하였다.

실험 재료 및 방법

재 료

효모 고정화를 위한 담체로는 난석으로부터 제조한 담체, 국내기업에서 개발된 담체 및 기존의 제품화되어 있는 외국산 담체를 사용하였다(Table 1). 고정화능의 확인을 위해 사용한 균주는 오비 맥주(주)에서 맥주의 생산을 위해 사용하고 있는 *Saccharomyces uvarum* E2를 사용하였으며 이는 slant상태로 보관하면서 액체배지(맥즙)에서 배양하여 사용하였다.

고정화 방법

담체의 고정화 능력을 확인하기 위해 정치 고정화 방법과 순환 고정화 방법을 사용하였다. 정치 고정화 방법에서는 내경 2 cm의 유리 튜브에 담체를 1~2 mL 정도 가하고, 1×10^8 cells/mL의 효모 현탁액을 5~8 mL 가하여 4~10 °C에서 12시간 정치시켰다. 이 경우 일정시간이 지나면 효모가 바닥에 가라앉아 고정화율이 저하되게 되므로 이를 최소화하기 위하여 3시간마다 mixing하여 주었다. 고정화 단계가 끝나면 mixing하여 담체에 흡착되지 않은 효모를 제거하였다.

효모농도 분석

담체는 다공성 세라믹으로 개방 기공을 갖고 있어 여기에 효

모가 고정화된다. 고정화능을 조사하기 위해서는 고정화된 효모의 양을 측정해야한다. 본 연구에서는 염수를 사용하여 담체로부터 효모를 먼저 씻어낸(탈착) 뒤 Haemacytometer (Novoglass, Germany)를 이용하여 균수를 직접 세거나 건조 균체를 측정하였다. 구체적인 방법과 순서는 다음과 같으며 이 방법의 타당성 검증에 관해서는 결과 및 토론 부분에서 논한다. (1)1 mL 가량의 고정화 담체 sample을 내경 2 cm인 flat-bottom 유리튜브에 옮기고 3~5 mL의 탈착수(2% NaCl 용액)를 가하고 Vortex mixer로 담체가 완전히 회전할 정도로 20초간 섞어준다. (2)뿌옇게 탈착된 효모를 따라낸다(비이커에 모은다). (3)(1)의 과정을 5~10회 가량 반복한다. 이는 매회 탈착액 중의 효모농도가 10^4 cells/mL 이하가 될 수준까지 반복하면 충분하다. (4)비이커에 모은 액중의 효모농도를 counting하고 액의 부피를 측정하여 총 효모수를 구한다. (5)탈착이 끝난 담체는 105°C 오븐에서 건조시킨 후 중량을 측정한다. (6)총효모수, 담체의 중량, 담체의 충전 밀도(g/ml bed) 값으로부터 고정화된 효모의 농도를 계산하여 cells/g bead 또는 cells/ml bed로 표시했다(26).

전자 현미경 사진

전자현미경 관찰을 위해서는 효모가 고정화된 담체를 전처리 하여야한다. 일반적으로 glutaraldehyde를 이용한 chemical fixation을 이용하지만, 본 연구에서는 효모의 크기가 3~8 μ m으로 쉽게 관찰 가능하였으므로 chemical fixation 대신 -70°C에서 동결건조 시킨 후 다음과 같은 순서에 의해 촬영하였다. 전자현미경은 JEOL사의 JXA-840A Electron Probe Analyzer를 사용하였다. (1)효모가 고정화된 담체를 맥주가 충분히 확산되어 제거 되도록 증류수에 담가둔다(10분 정도, 2~3차례 반복). (2)증류수를 따라내어 제거하고 담체를 -70°C 냉장고에서 냉동시킨다. (3)동결건조기의 압력이 충분히 낮아졌을 때(10^{-2} Torr 정도) 냉동상태의 담체를 동결건조기에 넣고 12시간 동안 건조시킨다. (4)동결건조가 끝난 담체를 2KV에서 180초정도 조건으로 Gold coating한 후 전자현미경으로 관찰한다.

난석의 열 및 화학적 처리

난석을 파쇄하여 2-3 mm의 입도 부분을 골라낸 다음 이를 600°C의 전기로에서 태우거나 염산(1N) 또는 수산화나트륨 용액(1N)으로 온도 및 시간을 변화시키면서 불순물을 녹여낸 뒤 중성이 될 때까지 물로 충분히 씻었다.

결과 및 토론

효모의 탈착

다공성 세라믹 담체에 고정화된 효모를 탈착시키는 것은 기공 내부의 효모를 기공 밖으로 빼내는 과정이므로 단순한 세척방법

Table 1. Specification of media used for the immobilization of yeast

Name	Major Component	Size (mm)	Shape	Pore size (μ m)	Maker
HAN	Silica	1.0~2.0	irregular	20~100	Han Glass Co.
G#, SS#	Silica, Alumina	1.0~5.0	irregular or sphere	5~30	Ssang Yong Cement Co.
FLO	Silica	1.0~2.5	irregular	15~80	Self-made
Hyperemics [®]	Silica	3.0~5.0	sphere	20~25	Kirin Brewery Co.(Japan)
Cordierite	Alumina, Silica	3.0~5.0	sphere	8~15	Ssang Yong Cement Co.

으로는 어렵다. 지금까지 대부분의 연구에서는 담체를 파쇄한 후 원심분리 등의 방법에 의해 담체 가루를 제거하고 탈착된 효모를 counting하는 방법을 사용하였다. 그러나 대부분의 세라믹 담체의 경우 크기가 균일하지 못하여 2~3개 또는 그 이상의 담체를 파쇄하여 담체의 평균 부피를 기준으로 효모의 농도를 계산하면 경우에 따라서 오차가 커질 수 있다. 평균 부피 대신 파쇄한 담체 전체의 무게를 측정하여 고정화 효모 농도를 구하는 것은 다소 정확도를 증가시킬 수 있다고 생각되나 완전히 분말화된 담체를 원심분리 또는 기타의 방법으로 효모와 분리하는 것 자체가 용이하지 못하다. 따라서 본 실험에서는 담체를 파쇄하지 않고 기공에서 효모를 빼내는 방법을 개발하여 고정화 효모의 농도를 조사하였다. 앞에서 설명한 순서와 방법에 따라 탈착시킨 결과 담체에 잔존하는 효모의 농도는 거의 무시해도 좋을 수준이었다. 그리고 탈착 시 담체의 파편이 매우 소량이기 때문에 탈착한 효모의 counting이 용이하고, 담체의 크기에 상관없이 균일한 결과를 얻을 수 있었다. Figure 1에 기존의 파쇄법과 본 방법과의 비교를 보였다. 본 연구에서 개발하여 사용한 Vortexing 방법이 기존의 앞선 연구에서 사용하여 오던 Crushing방법과 비교할 때 그 차이가 10% 이내로 이는 일반적인 counting 단계에서도 발생할 수 있는 오차범위이므로 Vortexing방법을 사용하여도 그 측정결과에 문제가 없다는 것을 알 수 있었다. Figure 2에 탈착 횟수별로 탈착되는 효모의 수를 보였다. 10회 탈착되는 효모의 수는 전체 효모의 1%이하이므로 이 이후 탈착되는 효모 즉, 10회 탈착 후 담체에 남아있는 효모의 농도는 무시하여도 좋다고 볼 수 있다. 탈착 전·후 담체의 표면 및 담체의 파단면의 전자현미경 사진을 Figure 3에 보였다. 탈착 후 담체의 표면 및 담체의 파단면에 잔존하는 효모는 거의 없음을 알 수 있다. 담체의 강도가 취약할 경우 본 방법의 적용이 문제가 된다고 생각할 수 있으나, 실제 실험에서 사용한 담체 중 강도에 있어 가장 취약한 담체인 Hypermics^(R)를 대상으로 3분간 Vortexing 후 무게 감소를 조사한 결과 10% 미만으로 나타났으며, 이는 탈착 후 보정하여 줄 수 있으므로 문제가 되지 않는다. 따라서 본 탈착방법은 대부분의 담체에 대해 적용 가능하다고 할 수 있다. 이 측정 방법은 적용이 간편하고, 단시간에 정확한 결과를 얻을 수 있었다.

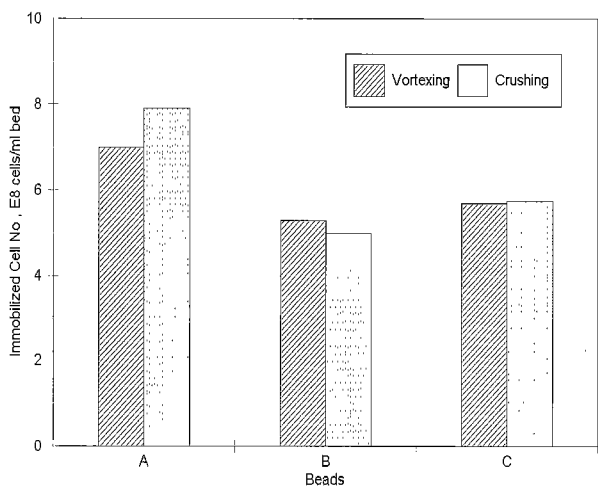


Figure 1. Comparison of immobilized cell concentration by different desorbing methods. A : Hypermics^(R), B : HAN, C : Siran^(R)

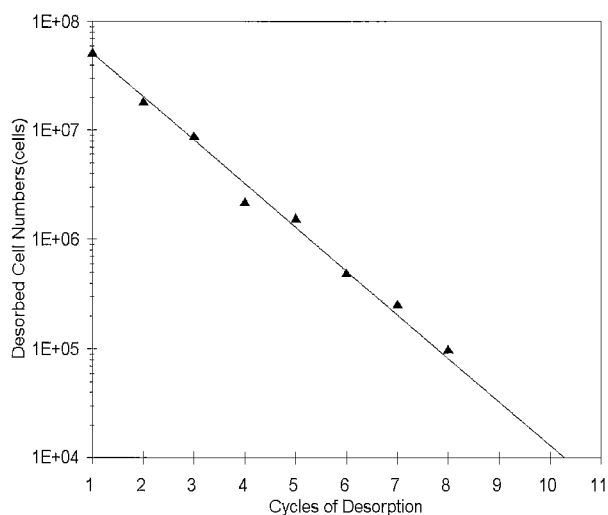
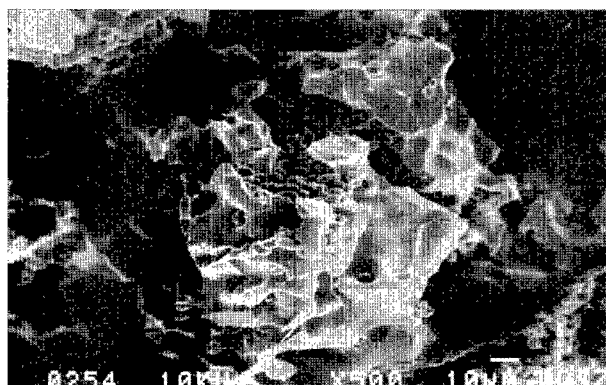
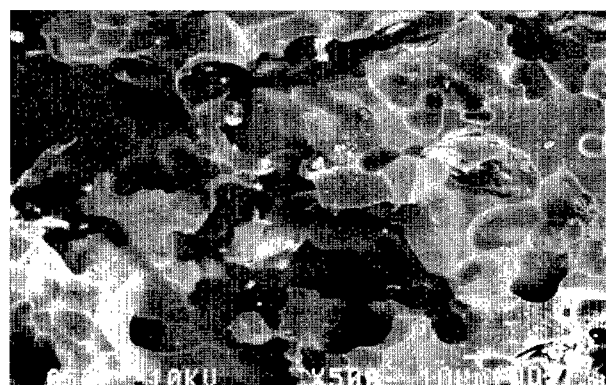


Figure 2. Desorbed cell numbers at each desorption cycle.



(a)



(b)

Figure 3. Comparison of scanning electron micrograph of media before and after desorption. Medium was HAN. (a) Before desorption($\times 500$), (b) After desorption($\times 500$)

난석의 열 및 화학적 처리

자연상태의 난석을 고정화 담체로 사용할 경우의 적절한 크기인 2~3 mm로 파쇄하고, 기공내의 가연성 이물질의 제거를 위해 전기로에 넣고, 600 $^{\circ}$ C로 태우면서 처리 시간 별 감량을 조사하였다(Figure 4). 전기로에서 회화시키는 동안 제거되는 물질은 기공을 막고있던 유기물이라고 볼 수 있으며 그 양은 2~4%

(w/w) 정도였고, 처리시간은 600°C에서 1.5시간이면 충분한 것으로 나타났다. Figure 5에 처리 전·후의 전자현미경 사진을 보았다. 사진에서도 회화 후 기공내의 불순물이 제거되어 기공이 확연하게 드러남을 확인 할 수 있었다. 난석이 지상에 있을 때 흙에 함유된 성분이 기공으로 들어갈 확률이 제일 높으므로 이를 제거하기 위해서는 화학적 처리가 필요하다고 판단되었다. 화학적 처리는 산 및 알칼리 처리로 구분하여 실시하였다. 산처리의 경우 염산(1N)을 사용하여 가열 처리하였고, 알칼리의 경우 NaOH 용액(1N)에 담그고 가열 처리하였다. 산, 알칼리 처리 모

두 전기로에서 1차적으로 회화를 한 경우가 무게감소가 적었다 (Figure 6). 이는 회화시 제거된 물질이 화학적 처리에 의해서도 제거될 수 있음을 나타낸다. 산처리의 경우 2시간 정도 처리하면 3~4%의 무게감소를 보였고, 이 이후 처리시간을 연장하여도 무게감소가 크지 않았다. 따라서 산처리의 경우 적절한 처리시간은 2시간이라고 할 수 있다. 그러나 이와는 대조적으로 알칼리 처리의 경우 시간이 증가할수록 무게가 계속하여 감소하였다. 산처리의 경우 담체의 기공 및 표면 형상에 영향을 주지 않았으나 알칼리 처리의 경우 담체 표면의 용출현상으로 인하여 기공구조가 파괴되는 현상을 나타내었다. 이는 담체의 구성성분과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. 즉, 담체를 구성하고 있는 주성분이 실리카이므로 이 성분이 알칼리에 의해 용해되기 때문이다. 따라서 알칼리 처리는 고온에서 장시간 실시할 경우 실리카 성분의 용출로 인해 담체의 강도가 약해지고 기공구조도 파괴되므로 저온에서 단시간 처리하여야 한다는 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 실제 고정화를 위한 담체 시료의 제조시에는 전기로에서 태운 후 산처리하였다.

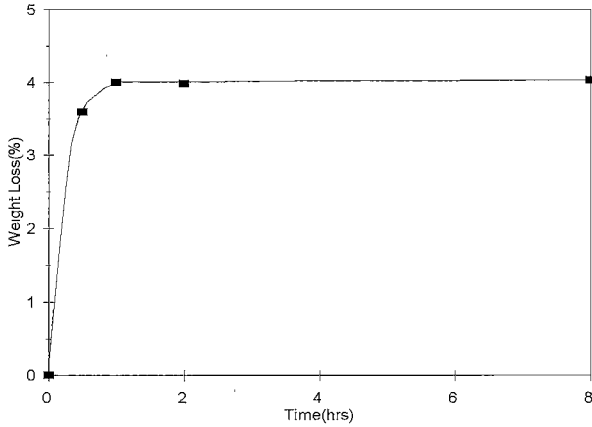
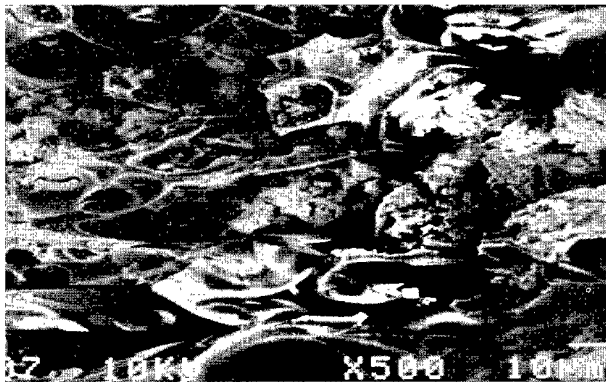


Figure 4. Weight loss change during burning at 600°C in an electric furnace.

담체의 특성

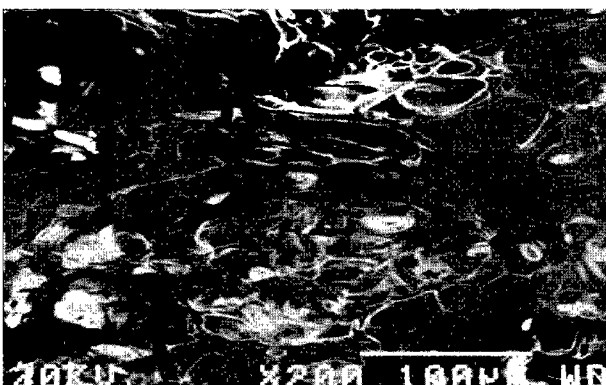
상기의 방법으로 제조한 담체는 충전밀도가 0.4~0.6 g/ml 정도로 고정화 담체로 사용하기에 적당하였고, 기공의 크기가 15~80 μm 였다. Table 2에 담체의 조성을 나타내었다. 이렇게 제조한 담체 (FLO)의 주성분은 SiO₂였고, Al₂O₃의 함량도 10~20% 정도로 높았다. 특히 다른 실리카 담체에 비해 CaO 및 Na₂O의 함량이



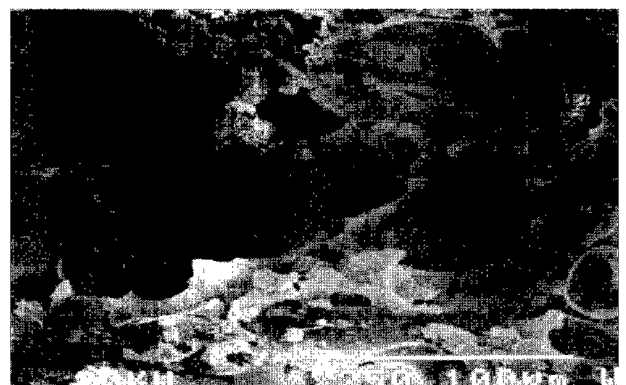
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 5. Pictures taken from scanning electron microscope. (a) before burning(×500), (b) after burning(×500), (c) acid treatment(×200), (d) alkali treatment(×250)

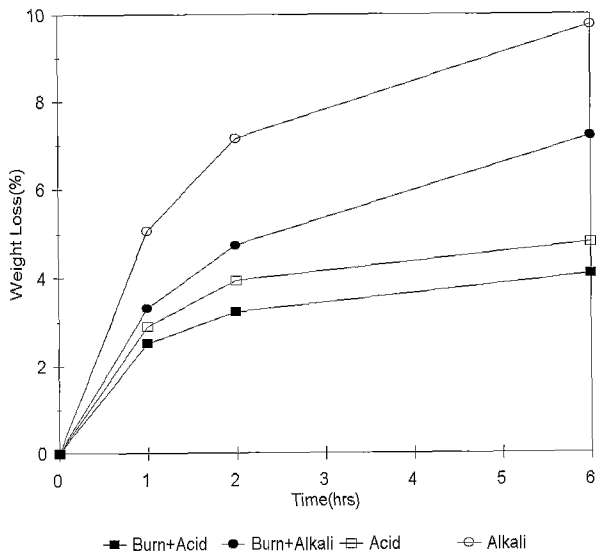


Figure 6. Weight loss changes of volcanic rocks with and without prior burning. Burn. : 600°C, 1hr; Acid : 1N HCl, 60°C; Alkali : 1N NaOH, 60°C

Table 2. Chemical composition of ceramic beads

Compound	Bead	(unit=wt%)					
		FLO	Alumina	HAN	HYP	Siran	BS
SiO ₂		79.6	2.7	74.8	67.4	73.88	80.2
Al ₂ O ₃		14.7	96.0	1.5	3.57	0.88	6.33
CaO		2.19	0.3	14.5	16.8	14.55	0.37
MgO		-	0.2	-	-	-	-
K ₂ O		2.65	-	0.94	1.71	0.2	2.48
Na ₂ O		0.3	0.4	7.07	9.92	9.03	7.04
Fe ₂ O ₃		0.63	0.4	0.65	0.16	1.01	0.36
SO ₃		-	-	0.28	0.42	0.35	0.2
BaO		-	-	0.25	0.05	0.1	3.02

FLO : media made in this experiment
 Alumina : bead made of alumina by Ssang Yong Cement. Co., Korea
 HAN : bead made of silica by Han Glass Co., Korea
 HYP : Hypermics^(R) from Kirin Co., Japan
 Siran^(R) : Silica based bead from Schott Co., Germany
 BS : bead made of borosilicate by Han Glass Co., Korea

현저히 낮았다. 담체의 강도에 있어서는 표면의 구조로 보면 Hypermics^(R)와 유사하여 강도도 유사하리라고 생각할 수 있으나, 담체의 조성에 알루미늄의 함량이 높아서인지 Hypermics^(R)에 비해서는 현저히 강한 특징을 보였다. 위의 결과로부터 FLO 담체는 효모 고정화 담체로서 요구되는 적합한 특성을 가지고 있다고 할 수 있다.

담체별 효모 고정화 능력

Cordierite 담체와 알루미나 담체의 고정화능을 조사한 결과 Figure 7과 같았다. 효모의 고정화능이 Control로 사용한 독일 Schott사의 Siran^(R)에 비해 50% 이하로 나타났는데 이는 이들 담체가 기공의 크기가 작고(Table 1) 표면이 매끄럽지 못하여

(Figure 8) 효모가 흡착하기 위한 접촉이 원활치 못하기 때문으로 생각된다. 결국 이 담체는 효모 고정화용 담체로 쓰기에 적합하지 않다고 생각한다. 알루미나를 원료로한 담체의 경우

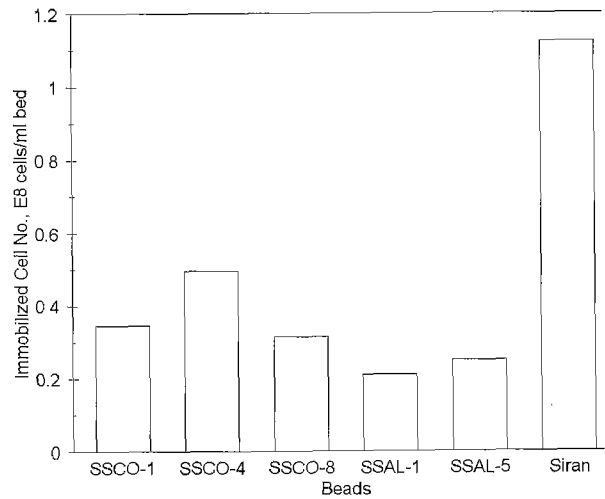
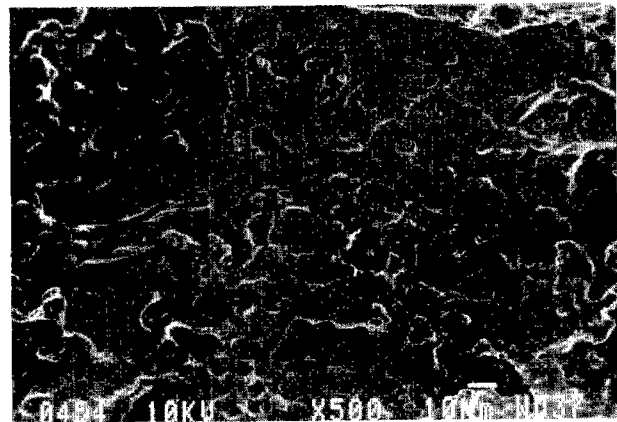
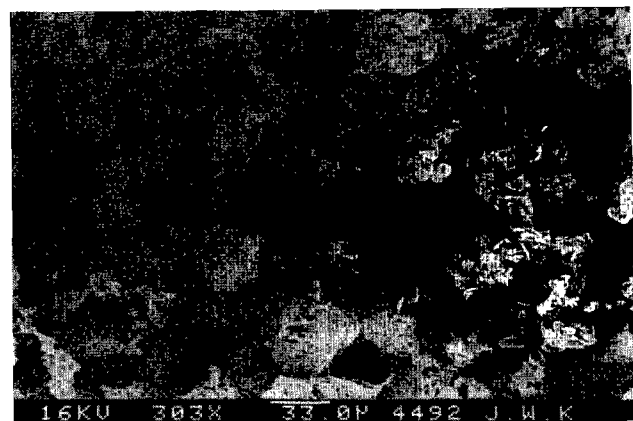


Figure 7. Comparison of immobilized cell concentration on cordierite and alumina media. Control was Siran^(R) from Schott Co. SSCO-1: Cordierite, 10 μm pore size, SSCO-4: Cordierite, 20 μm pore size, SSCO-8: Cordierite, 30 μm pore size, SSAL-1: Alumina, 10 μm pore size, SSAL-5: Cordierite, 20 μm pore size



(a)

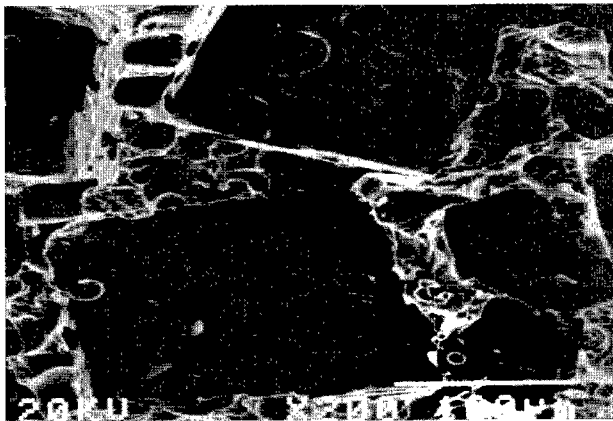


(b)

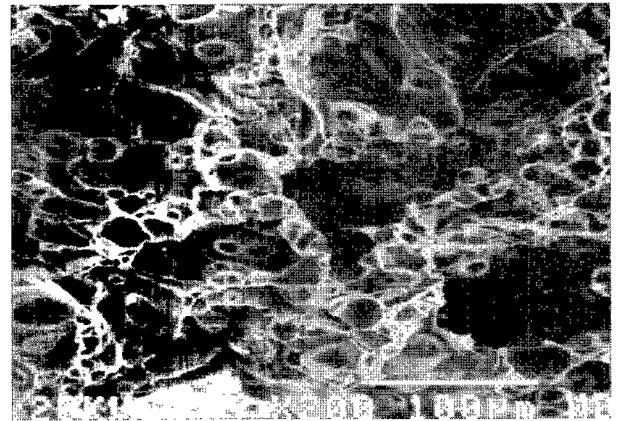
Figure 8. Scanning electron micrographs of the surfaces of media made of (a) Cordierite and (b) Alumina.

일본에서는 다공성의 담체로 제조되어 효모 고정화용으로 사용된다고 알려져 있어(3) 본 실험 결과와 일치하지 않는데 이는 원료재질은 같으나 기공을 형성하는 가공방법이 근본적으로 차이가 나기 때문이라고 생각한다. 알루미나 담체의 경우 제조시 1300℃ 이상의 고온을 요하고 원료의 가격이 비싸 담체의 가격이 비싸진다는 문제점이 있어 대량 사용시 원가상승의 요인이 되며 고정화능도 낮아 당장 상업용 담체로 적용하기는 어렵다고 판단된다. 알루미나 재질의 담체의 실용화를 위해서는 우선 효모의 흡착에 적합한 표면 기공을 형성시키고 이를 대량으로 생산할 수 있는 공정의 개발이 필요하다. 실리카를 원료로 하여 제조한 담체들은 원료의 조성은 유사하나, 제조공법에 있어서는 현저히 다르다. S사 제품의 경우 원료에 고온에서 기체를 발생시키는 염을 첨가하여 소결하는 과정에서 이들 염에서 발생하는 기체가 기공을 형성하는 방법을 이용하였고, H사 제품의 경우 원료에 고온에서도 안정한 염(CaCl₂, NaCl 등)을 첨가하고, 소결시킨 후 염을 다시 녹여내는 방법을 이용하였다(27). 전자를 고상포말법이라 하는데 일본의 Kirin Brewery Co.에서 Hypermics^(R)를 제조하는데 사용한 방법이며(28) 후자의 방법은 독일의 Schott사에서 Siran^(R)을 제조할 때 사용한 방법이다(29,30). 각 방법으로 제조한 담체의 전자현미경 사진을 Figure 9에 보였다. HAN 담체는 Schott사의 Siran^(R)과 다소 다르게 보이는데 이는 사용한 염의 종류 및 크기가 다르기 때문이다. 실리카 재질

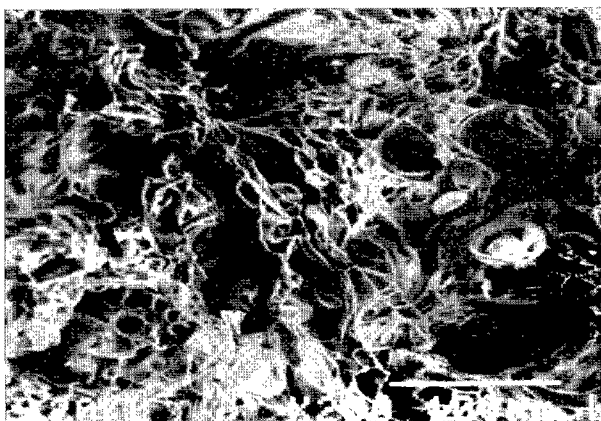
의 담체에 대한 고정화능 test결과를 Figure 10에 보였다. 실리카 담체의 경우 앞서 test하였던 Cordierite, 알루미나 담체에 비해 매우 높은 고정화능을 보였다. G-1과 G-2는 기본적으로는 동일한 재질이나 G-2는 G-1을 파쇄하여 2-3 mm크기의 입자를 선별한 것이다. S사에서 사용한 고상포말법의 경우 앞에서도 언급 했듯이 담체의 표면에 기포를 형성시키고 소결공정이 끝난 후 이들 기포를 파괴하거나 실리카를 녹일수 있는 가정소다를 사용하여 기공을 형성시키게 되는데 경우에 따라서는 상당한 미개방 기공(Closed Pore)이 남게된다. G-2는 G-1을 파쇄한 것이므로 대부분의 미개방 기공은 파쇄 과정에서 파괴되어 담체는 개방 기공구조를 가지게 되므로 고정화 될 수있는 기공이 많아지게 되어 G-2의 고정화능이 우수하게 나타났다고 생각된다. 자연석을 원료로 화학적 처리에 의해 제조한 FLO 담체의 경우 이 담체와 유사한 기공구조를 가진 Kirin사의 HYP와 비슷한 수준의 높은 고정화능을 보였다. HAN의 경우 기공의 크기가 30 μm 이상이므로 효모가 고정화되기에 충분하며(효모의 크기: 3~6 μm) 고상포말법에 의해 제조된 담체와는 달리 담체의 기공이 완전히 개방된 개방 기공(open pore)이므로 고정화 및 물질전달 면에서도 유리하다고 볼 수 있다. 고정화능의 경우 각 담체 사이에 큰 차이가 없었으며, 모두 2.5×10⁸ cells/ml 이상의 고정화 효모 농도를 보여 우수한 편이었다.



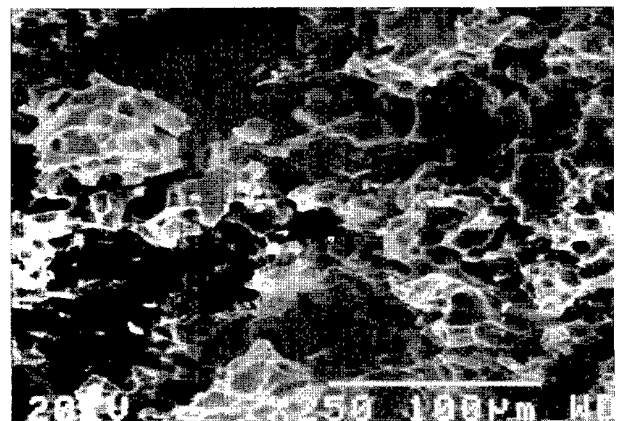
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 9. Scanning electron microscope photographs of silica based media. (a)Siran^(R) from Schott Co.(×200), (b)Hypermics^(R) from Kirin Co.(×200), (c)Self-made media, FLO(×200), (d)HAN by H. Co.(×250)

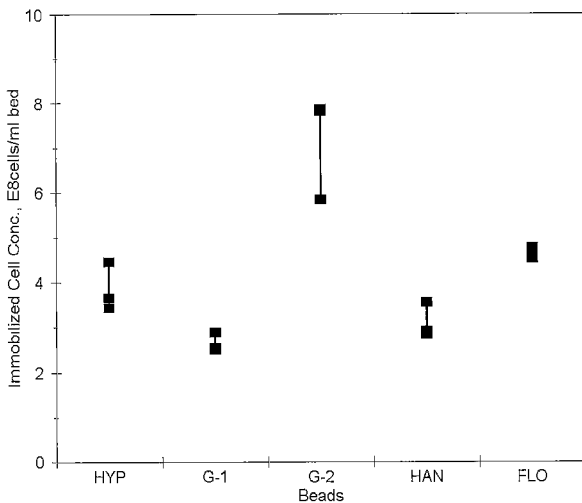


Figure 10. Comparison of immobilized cell concentration on silica-based media. Abbreviations are described at text.

요 약

난초를 키우는 화분에 보습용으로 사용되는 다공성 화산석을 2-3 mm크기로 파쇄한 후 600℃에서 1시간 태워서 가연성 물질을 제거하고 1N의 염산용액으로 60-70℃에서 2시간 이물질을 녹여낸 후 세척할 경우 효모 고정화에 적당한 담체를 얻을 수 있었다. 이 때 염산 용액 대신 NaOH 용액을 세척용액으로 사용할 수 있으나 담체 구성성분의 용출이 있을 수 있으므로 용액 농도, 처리온도 및 시간에 주의하여야 한다. 이렇게 제조된 담체는 기공의 크기가 15-80 μm이고 충전 밀도는 0.4-0.6 g/mL 였으며 SiO₂가 주성분이었고, Al₂O₃가 소량함유되어 있었으며, CaO, MgO가 미량 함유되어 있었다. 이 담체의 구조와 효모 고정화 능력을 국내의 기업에서 제조한 실리카 및 알루미늄 재질의 담체의 경우와 비교한 결과 고상포말법으로 제조한 실리카 담체의 구조 및 고정화능력(2.5×10⁸ cells/mL bed)과 비슷한 결과를 보여 효모 고정화용 담체로 손색이 없었다. Cordierite 담체와 알루미늄 담체는 고정화능이 실리카 담체의 50% 이하로 낮았는데 이는 기공의 표면이 매끄럽지 못했기 때문으로 효모가 쉽게 흡착하기 위해서는 가능한 한 매끄러운 표면이 바람직하다는 사실을 알 수 있었다.

감 사

본 연구를 위해 담체를 제공해준 쌍용양회(주), 한국유리(주), Kirin 맥주(주) 그리고 연구결과의 공개를 허락해 준 두산 인제 기술개발원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Scott, C.D.(1987). Immobilized cells: a review of recent literature. *Enzyme Microb. Technol.*, **9**, 66-73.
2. Horitsu, H., Y. Maseda, and K. Kawai(1990), A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeasts, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 295-300.
3. Horitsu, H., M. Wang, and K. Kawai(1991), A modified pro-

- cess for soy sauce fermentation by immobilized yeasts, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 269-271.
4. Iwasaki, K., M. Nakajima, H. Sasahara, and A. Watanabe (1991), Rapid ethanol fermentation for soy sauce production by immobilized yeast cells, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2201-2207.
5. Bakoyianis, V., M. Kanellaki, A. Kaliafas, and A.A. Koutinas (1992), Low-temperature wine making by immobilized cells on mineral kissiris, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1293-1296.
6. Matsuura, K., M. Hirotsune, F. Makada, and M. Hamachi (1991), On-line control for continuous sake fermentation, *Hakkokogaku*, **69**, 455-461.
7. Inoue, T., J. Tanaka, and S. Mitsui(1993), Japanese Technology Reviews, Section E, Volume 2, Number 1:Recent Advances in Japanese Brewing Technology, Isao Karube ed., Gordon and Breach Science Publishers, 45-105., New York.
8. Hecker, D., B. Bisping, and H-J. Rehm(1990), Continuous glycerol production by the sulphite process with immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **32**, 627-632.
9. Cop, J., D. Dyon, D. Iserntant, and C.A. Masschelein(1989), Reactor design optimization with a view to the improvement of amino acid util'n and flavour development in calcium alginate entrapped yeast fermentations. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, p.315-322.
10. Jamuna, R., P. Sai, S. Vora, and S. Ramakrishna(1992), Optimization of critical parameters for immobilization of yeast cells to alginate gel matrix, *J. Ferm. Bioeng.*, **73**, 319-322.
11. Gilson, C.D., and A. Thomas(1995), Ethanol production by alginate immobilized yeast in a fluidized bed bioreactor, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **62**, 38-45.
12. Nunez, M.J., and J.M. Lema(1987), Cell immobilization : Application to alcohol production, *Enzyme Microb. Technol.*, **9**, 642-651.
13. Kawamura, Y. and F. Miyazawa(1989), Application of chitosan for bioreactor system in brewing process, *Nihonshujokikai* **86**, 907-912.
14. Yoshida, Y., M. Kawase, T. Majima and T. Shiraiishi(1990), A bioreactor with immobilized enzyme on porous ceramics, *Hakkokogaku*, **68**, 267-273.
15. Inoue, T.(1995), Development of a two-stage immobilized yeast fermentation system for continuous beer brewing, *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, p25-36.
- 16.. Kanellaki, M., A.A. Koutinas, K. Kana, M. Nicolopoulou, A. Papadimitriou, and A. Lycourghiotis(1989), Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* promoted by γ-Alumina, *Biotechnol. Bioeng.*, **34**, 121-125.
17. Passarinho, P.C.L.V., and A.M.S. Vieira(1989), Effect of carrier matrix on fermentative production of ethanol by surface immobilized yeast cells, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **44**, 183-194.
18. Kana, K., M. Kanellaki, C. Psarianos, and A. Koutinas(1989), Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on mineral kissiris, *J. Ferment. and Bioeng.*, **68**, 144-147.
19. Tsoutsas, T., M. Kanellaki, C. Psarianos, A. Kalliafas, and A. A. Koutinas(1990), Kissiris : A mineral support for the promotion of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Ferment. and Bioeng.*, **69**, 93-97.
20. Baker, D.A., and B.H. Kirsop(1973), Rapid beer production and conditioning using a plug fermenter. *J. Inst. Brew.*, **79**, 487-494.
21. Kawase, M., and M. Koketsu(1989), Porous ceramic carrier for bioreactor, *Ceramics*, **24**, 618-623.
22. Amory, D.E., and P.G. Rouxhet(1988), Flocculence of brewery yeast and their surface properties : chemical composition,

- electrostatic charge and hydrophobicity, *J. Inst. Brew.* **94**, 79-84.
23. Takata, I., T. Tos, and I. Chibata(1977), Screening of matrix suitable for immobilization of microbial cells, *J. Solid Phase Biochem.* **2**, 225-228.
 24. Looby, D., and J.B. Griffiths(1988), Fixed bed porous glass sphere(porosphere) bioreactors for animal cells, *Cytotechnology* **1**, 339-346.
 25. Oishi, T., and R. Sasaki(1989), Ceramic substrate for tissue culture, *Ceramics* **24**, 643-647.
 26. Park, S.J.(1996), Studies on the development of beer maturation process using immobilized yeast, Ph.D. Dissertation, Dept. of Chemical Technology, Seoul National University, Seoul.
 26. Lee, J.Y., and C.S. Choi(1994), Method for producing porous sintered glass media with open pores, *Korea Patent* 75,635.
 27. Itami, H., A. Nagara, H. Taguchi, and T. Ehara(1991), Method for producing granular multi-cellular glass and the glass produced by the method, *US Patent* 5,039,630.
 38. Kiefer, W., and M. Sura(1983), Low-density, open-pore molded inorganic body with a homogeneous pore distribution, *US Patent* 4,404,291.
 29. Kiefer, W., and M. Sura(1986), Method of manufacturing porous sintered inorganic bodies with large open pore volume, *US Patent* 4,588,540.