

Screw Pumping System을 이용한 Alginate bead의 생산

류지성, 이윤종, 윤영실, 허태련

인하대학교 생물공학과, 식품 생명 공학실험실

전화 (032) 860-8298, FAX (032) 875-0827

Abstract

A method for the mass production was designed by using a screw pumping system that can supply safe bifidobacteria. To prevent the inhibition of cell activity, various additives, which are able to preserve pore of an alginate bead, were used.

When materials are sterilized, viscosity decreased below 300cp. Adding bifidobacteria, viscosity increased to 300cp. We manufactured various extrusion nozzles and tested mass productivity of the alginate bead. As a result, 18G, 4mm length syringe with 13 multi-nozzle showed the best productivity which was about $308 \pm 3 \text{ea/min}$.

서론

Bifidobacteria는 Tissier에 의해 최초로 발견된 이후 장내에서 유해세균을 억제하는 등의 효과가 있는 것으로 알려지고 있으며, 이들의 특성 및 활용에 대한 광범위한 응용연구가 진행되고 있다.¹⁾ Bifidobacteria의 연구와 그 생존 안정성을 위한 고분자 비드 및 미세 캡슐의 다양한 제조법이 수년간 많은 연구자들에 의해 보고되고 있으며²⁾, gel-bead의 제조에 사용되는 재료로 alginate가 가장 많이 사용되고 있다³⁾, 이는 alginate가 비 독성이며, 식품첨가물로 이용될 수 있을 뿐 아니라 낮은 온도에서도 비드의 제조가 가능하기 때문이다.⁴⁾ 현재까지 alginate 비드를 생산하는 방법으로는 syringe를 이용한 dropping method가 주종을 이루고 있으며⁵⁾, 이는 비드의 대량 생산 방법으로는 부적절한 것으로 알려지고 있다. 최근에 보고된 대량 생산방법 또한 in vitro 상에서 비드를 제조하는데 있어 각각의 한계를 가지고 있다. 본 실험실에서는 장내 유익균종인 *Bifidobacterium* species의 장내 생존력을 높이기 위한 세포 포집 재료로서 alginate 및 이들 첨가물질의 응용 가능성에 대해 보고한 바 있으며⁶⁾, 이를 이용한 유산균 비드를 대량으로 제조하기 위한 SPS(screw pumping system) device를 고안하였다. screw pumping system은 고 점도의 유체를 혼합하고 이송하는데 있어서 일정한 압력을 유지할 수 있어 매우 효율적일 뿐 아니라,⁷⁾ 또한 제작과 운전이 간편하여 저 비용으로 비

드의 연속적인 대량생산을 기대할 수 있다. 본 연구의 목적은 비드 생산시 균체에 가해지는 스트레스를 최소로 하며 동시에 다량의 비드를 제조하기 위한 비드 생산에 적절한 SPS의 조건 탐색 및 비드의 생산효율 조사, 핵심 부품인 droplet plate의 설계 및 제작에 있다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 bifidobacteria(*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)는 working volume 1L에서 고농도 배양하여 사용하였다. 포집물질인 alginate(J co., S co.)와 첨가물질들은 멸균하여 사용하였다. SPS는 저속모터와 screw, syringe, droplet plate를 조합하여 제작하였다. alginate, 첨가물 및 cell 농도에 따른 점도를 측정하여 비드 생산량과의 상관관계를 조사하였다.

결과 및 고찰

Alginate와 bifidobacteria 포집 시 장내 생존력을 증강시키는 것으로 선행 연구를 통하여 밝혀진 첨가물을 최적농도로 배합한 후 각 실험구에 대한 멸균 전, 후의 점도를 측정하여 모든 실험구에서 300cp 이하로 점도가 감소하였다(Fig. 1.).

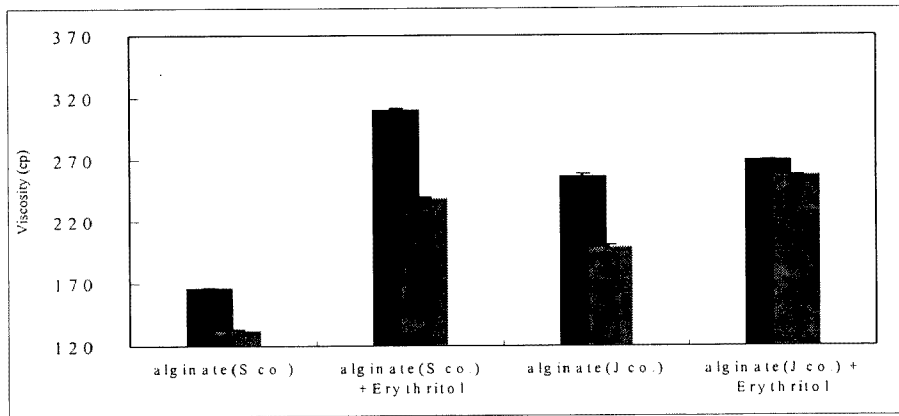


Fig. 1. Comparison of viscosities between non-sterilized and sterilized entrapment materials with additives (■ : non-sterilized, ▨ : sterilized)

실제 bifidobacteria 비드 제조시 영향을 알아보기 위해, 고농도 배양한 bifidobacteria(2.235×10^9 cfu/ml) 첨가 후 점도를 측정하여 material의 점도가 각각 308.2 ± 1.4 cp, 305 ± 2.2 로 증가하였으며(Fig. 2.), 이 범위의 점도는 이전의 방법에서 alginate 비드 제조시 생산량에 영향을 받는 점도로 보고되고 있다.

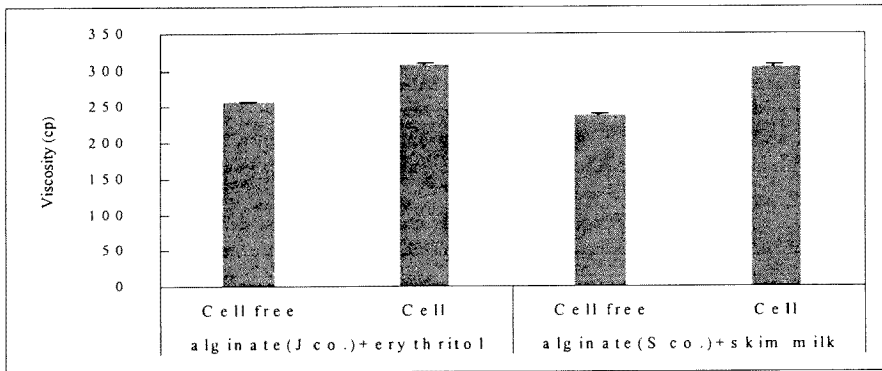


Fig. 2. Viscosity of sterilized materials including additives with cell and cell free

이상의 점도 조건으로 비드를 제작하기 위해 18G~22G의 syringe를 이용해 다양한 size의 비드 대량생산에 용이한 multi-nozzle을 설계하고 제작 하였으며, multi-nozzle에 부착될 nozzle의 size 및 length에 대한 비드의 대량생산 능력에 대한 결과를 비교한 결과 18G syringe가 4mm의 length로 부착된 형태의 nozzle이 가장 우수한 것으로 나타났다(Table 1.).

Table 1. Comparing the numbers and size of beads produced from various nozzle sizes and length (beads/min)

Nozzle length(mm)	Nozzle size		
	18G(0.91mm)	20G(0.58mm)	22G(0.41mm)
6	163±5	-	-
5	220±4	-	-
4	308±3	63±1	14±1
3	-	80±4	30±1

여러 size의 nozzle중 가장 생산성이 높은 것으로 선별된 18G, 4mm nozzle를 다른 비드 제조법으로 생산된 비드의 분당 생산량과 비교한 결과 기존 방법보다 2~14배 높은 생산성을 보였다(Fig. 3.).

요 약

본 실험은 Bifidus균의 위 장관 내 공급 시 균의 사멸에 대한 안정성을 높이기 위해 제조하는 microcapsule화 된 비드의 생산성을 향상시킬 목적으로 실시하였다. Bifidus균의 세포 포집 시 유사 위액과 담즙산에 높은 생존율을 보인 것으로 조사된 여러 종류 첨가물의 최적 농도로 비드를 제조하였을 때, material의 점도가 멸균 후 300cp

이하로 감소하였으며, cell 첨가 시 alginate bead 제조 한계 점도인 300cp 부근까지 증가하였다. 이상의 조건에서 고 점도의 alginate solution을 이송, 압출할 수 있는 SPS를 구성하였다. 비드의 생산성 비교 실험에서 18G, 4mm 규격의 nozzle을 13개 장착한 multi-nozzle은 308±3ea/min 의 생산성을 보였으며 airgun 및 sylinge를 이용해 제조한 경우보다 각각 2.18배, 14.09배의 생산량 증대효과를 얻을 수 있었다.

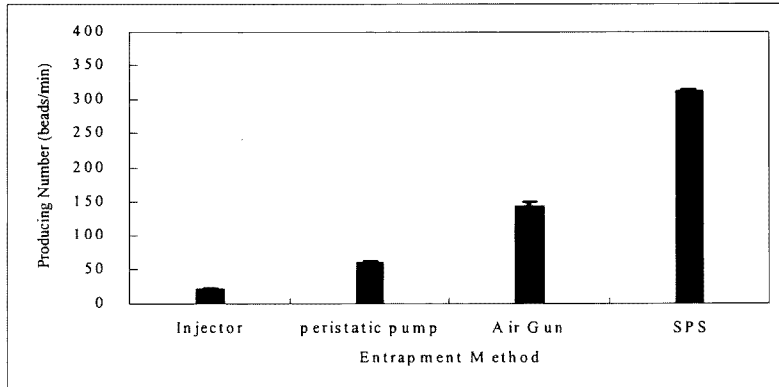


Fig. 3. Comparison of productivity with different entrapment method

참고문헌

1. Ishibashi, M. and S. Shimamura (1993), Bifidobacteria: research and development in Japan, Food Technol., **6**, 126-136.
2. Norton, S. and J.C. Vuilleumard (1994), Food bioconversions and metabolise production using immobilized cell technology, Crit Rev Biotechnol., **14**(2), 193-224.
3. Veliky, I.A. and R.J.C. Mclean (1994), Immobilized Biosystems Theory and Practice Applications, 1st ed., London: Backie and Professional, UK.
4. Prevost, H. and C. Divies (1988), Continuous pre-fermentation of milk by entrapped yoghurt bacteria. I. Development of the process, *Milchwissenschaft*, **43**(10), 621-625.
5. Brandenberger, H. and F. Widmer (1998), A New multinozzle encapsulation/immobilisation system to produce uniform beads of alginate, Journal of Biotechnology, **63**, 73-80.
6. Yim, T.B., I.G. Baek, C.S. Jeong, J.S. Ryu, G.E. Ji, B.K. Hur, and T.R. Heo (2002), Cell Entrapment for Bifidobacteria to increase Viability and Preservative Stability using Erythritol, Korean J. Biotechnol Bioeng., **17**(6), 531-536.
7. Rieger, F. (1997), Pumping characteristics of a screw agitator in a tube, Chemical Engineering Journal, **66**, 73-77.