

돼지감자 분말을 이용한 *Kluyveromyces marxianus*의 알코올 발효

채은미 · 최언호*

서울여자대학교 식품과학과

Optimization for Alcohol Fermentation by *Kluyveromyces marxianus* using Jerusalem Artichoke Powder

Chae, Eun-Mi and Eon-Ho Chol*

Department of Food Science, Seoul Woman's University, Seoul 139-744, Korea

Abstract — In order to produce alcohol for the alternative energy from dried powder of Jerusalem artichoke was investigated with *Kluyveromyces marxianus* UCD(FST)55-82, which was reported to assimilate inulin. The optimal condition for the production of ethanol by *K. marxianus* was elucidated to be incubation temperature of 30°C, initial pH 5.44, agitation of 100 rpm, 1,000 ml of medium in a 2.5l-vessel, anaerobic state, and inoculation of 2.5%(v/v). Addition of anti-foam A concentrate(silicon polymer) of 0.01% and urea of 0.1% increased the concentration of ethanol effectively. The optimized condition showed ethanol concentration of 6.8%(v/v) in Jerusalem artichoke liquid medium, production yield of 91.91% and productivity of 2.71 g/l/hr during the first day and 0.71g ethanol/l/hr during four days of incubation.

1973년 석유파동 이후 천연자원의 귀중함과 유한성을 절감한 세계각국은 1980년대에 들어와서 대체 에너지 개발에 많은 노력을 아끼지 않고 있다. 특히 biomass의 발효로부터 생산되는 알코올은 물리적, 연소적 특성이 석유 특성과 비슷하여 석유의 대체 에너지로 가장 각광을 받고 있는데 그 중 돼지감자(*Helianthus tuberosus* L.)의 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(1-8). 돼지감자는 독특하게 fructose의 고분자 화합물인 inulin으로 구성되어 있다. Inulin은 비환원성 말단에 sucrose 잔기를 가지고 있어(8) 흡습성이 크고, 뜨거운 물에 쉽게 용해되며, 산이나 효소처리에 의하여 쉽게 가수분해되는 비발효성 당으로 돼지감자 고형성분의 약 80%를 차지한다.

Inulin을 원료로 한 알코올 발효방법은 inulin을

산처리하거나(10-12) inulase를 이용하여 당화시킨 후 알코올 발효를 행하는 방법(13)과 inulin 분해력 및 알코올 발효능을 동시에 가지고 있는 균주를 이용하여 돼지감자 추출액을 당화공정없이 직접 알코올 발효를 행하는 방법으로 대별할 수 있다(7,14-16). 직접 알코올 발효방법은 당화공정을 거치는 간접 방법보다 많은 이점이 있으나 적합한 균주의 선발이 매우 중요시 된다. Margaritis 등(17-19)은 돼지감자에서 알코올 발효능이 우수한 *Kluyveromyces fragilis*를 선발하였고 Duvnjak 등(6)은 돼지감자 착즙액에 *K. marxianus*를 접종, 25시간 배양하여 inulin의 88%에 해당하는 수율로 알코올을 생산하였다고 보고하였다. 또한 Zibro 등(20)은 *Saccharomyces cerevisiae*, *K. fragilis*를 돼지감자 마쇄액에 접종하여 3~4일 후에 inulin의 50~70%에 해당하는 알코올을 생산하였다. 유 등(20)은 돼지감자 알코올 생산에 *K. fragilis*(CBS 1555)가 유용하다고 하였으며 목 등(22)은 돼지감자 착즙액의 발효에 관한 일련의 연구를 수행한 바 있고 이(23)는 돼지감자와 다른 biomass의 알코올 발효

Key words: Ethanol, alternative energy, alcohol fermentation, Jerusalem artichoke, *Kluyveromyces marxianus*, biomass energy

*Corresponding author

가능성에 관하여 기술하였다.

돼지감자의 알코올 발효를 산업화하는데 아직도 많은 문제를 내포하고 있다. 돼지감자는 가을에 수확되고 설사 땅 속에서 월동이 가능하여 봄에 수확하더라도 쉽게 발아, 부패되는 등 저장성이 좋지 않으므로 장기적으로 원료를 확보하려면 생감자 그대로는 곤란하다. 그러므로 절간 또는 분말화시켜야 하는데 지금까지의 연구보고는 주로 생돼지감자의 마쇄액이나 착즙액을 발효하는데 국한하였다.

이에 본 연구에서는 국내에서 생산된 돼지감자의 알코올 생산성 증대에 관련한 기초 자료를 얻기 위하여 생돼지감자가 아닌 건조분말을 사용하고 inulin 분해력 및 알코올 발효능이 우수한 균주로 알려진 *K. marxianus* (UCD(FST) 55-82)를 이용하여 알코올 생성의 최적 pH, 온도, 공기공급량, 교반속도, 균주의 접종량, 배지량 등의 영향을 조사하였다. 그리고 소포제와 질소원의 첨가가 발효과정 중 알코올 생성량에 미치는 영향도 조사하였다.

재료 및 방법

사용 균주

본 실험에 사용된 *Kluyveromyces marxianus* (UCD (FST)55-82)는 inulin 자화성 균주로서 미국 UC-Davis로부터 분양되었다. 분양균주는 YPD(1l 수용액 중 yeast extract 10g, peptone 20g, dextrose 20g 함유) 사면배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양 후 4°C에서 보관하였다.

돼지감자 전처리 및 일반성분 분석

1988년 서울대학교 농과대학과 경기도 남양주군 농가에서 수확된 돼지감자를 세척하여 가능한 얇게 절간하고 2일간 일광건조 시킨 후 분쇄하여 -20°C 냉동고에 보관하고 알코올 발효의 원료로 사용하였다. 일반성분의 분석은 상법에 의하여 수행되었다.

알코올 발효를 위한 배양조건 선정

돼지감자 분말시료 105g과 물 595 ml를 jar-fermenter(KFC SY-250 2.5l)에, 또는 시료 30g과 물 170 ml를 500 ml용 삼각 플라스크에 넣고 가압멸균(121°C, 15분) 후 YPD 액체배지에서 미리 배양한 *K. marxianus*를 이식하여, 배양기간(0, 1, 2, 4일)에 따른 발효

액의 pH, 적정산도, 총당질, 환원당, 생균수, 알코올 생성량을 조사하였다. 플라스크 배양의 경우에는 처음 24시간은 진탕배양하고 그 후 3일은 정치배양하였다.

배양온도 : 배양온도의 영향을 검토하기 위해서 플라스크 배양의 온도를 25, 30, 35, 40°C로 조정하였다. pH는 조정하지 않았다.

초기 pH : pH의 영향을 검토하기 위해서 3 N HCl, 3 N NaOH로 배지의 초기 pH를 4, 5, 6, 7로 조정하였으며, pH를 맞추지 않은 배지도 함께 조사하였다. 온도는 30°C로 유지하였다.

공기 공급 : Jar-fermenter에 공기 공급량을 0, 0.5, 1, 2, 4 Nl/min로 조정하여 처음 24시간만 주입하고 그 후 통기를 차단하였다. 발효조의 온도는 30°C, 교반속도는 200 rpm으로 유지시키고 pH는 조정하지 않았다.

교반속도 : Jar-fermenter의 교반기 속도를 각각 50, 100, 200, 400 rpm으로 조정하여 교반하였다. 발효조의 온도는 30°C로 유지하고 산소 공급량은 1 Nl/min로 24시간만 공급하였으며 pH는 조정하지 않았다.

효모의 접종량 : YPD 액체배지 250 ml에서 배양한 균주 현탁액을 원심분리한 후 세척하여 배양액 성분을 제거하고 침전에 멸균수 250 ml를 넣어 재현탁(10^7 cells/ml)시킨 후 돼지감자 배지에 2.5, 5, 10, 20%로 이식하였다. 플라스크 배지의 온도는 30°C로 유지하고 pH는 조정하지 않았다.

배지의 양 : 2.5l의 jar-fermenter에 배지의 양을 500, 750, 1,000, 1,500 ml로 달리 조정하였다. 발효조의 온도는 30°C로 유지하고 산소 공급량은 1 Nl/min로 24시간만 공급하였고 pH는 조정하지 않았으며 교반속도는 200 rpm으로 유지하였다.

소포제의 종류와 농도 : 소포제의 종류와 농도의 영향을 검토하기 위하여 calcium carbonate(CaCO_3)는 0.1, 0.5, 1.0%로, sorbitan monooleate(Span 80)과 antifoam A concentrate(Sigma : silicon polymer), polyoxyalkylene glycol 유도체는 0.01, 0.05, 0.10%로 첨가하여 배양하였다. 플라스크 배양온도는 30°C로 유지하고 pH는 조정하지 않았다.

질소원의 첨가 : 질소원의 종류와 농도의 영향을 검토하기 위해서 무기질소원으로 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KNO_3 , NaNO_3 , 유기질소원으로 urea를 질소함량이 각각 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4% 되게 조정하여 첨가하였다. 플라스크의 온도는 30°C를 유지하고 pH는 조절하지

않고 1, 2, 4일 배양 후 알코올을 분석하였다.

발효액의 성분분석 및 생균수의 측정

환원당은 발효액 10 ml를 그대로, 총당질은 발효액 20 ml에 증류수 180 ml와 25% HCl 15 ml를 가하여 끓는 수욕상에서 2시간 가수분해 시킨 후 Somogyi 방법으로 정량하였다.

적정 전후의 pH는 pH meter(Toa Electronics Ltd., model HM-5ES)로 측정하였다. 적정산도는 발효액 10 ml에 증류수 40 ml를 넣고 0.1 N NaOH 용액을 pH 8.3이 될 때까지 적하하여 소비된 0.1 N NaOH 용액의 ml수를 적정산도로 표시하였다.

Ethanol의 농도는 발효액 50 ml를 500 ml 증류 플라스크에 넣고 증류수 70 ml와 소포제로 polyoxyalkylene glycol을 몇 방울 첨가하여 단순 증류시켜 증류액 100 ml를 받아 Gay-Lussac meter에 의하여 정량하였다. 한편, 증류된 알코올의 조성을 gas chromatograph(Varian 3400; FID; glass column 2 m×2 mm, 6.6% Carbowax 20 M, Carbopack B 60~80 mesh; column 80°C, injector 150°C, detector 200°C; He gas 40 ml/min)로 분석하였다.

생균수는 발효액을 0.5 ml 취하여 멸균된 0.6 M KCl 용액을 이용하여 10배 단위로 희석하고 각 희석액 0.1 ml를 YPD 평판배지에 옮겨 30°C에서 48시간 배양 후 나타난 집락의 수로 계산하였다.

결과 및 고찰

돼지감자 분말의 일반성분

본 연구에서 사용한 돼지감자 분말의 수분함량은 9.52%이었고 총당질은 건물 중으로 74.69%로, 이 중 환원당이 22.36%, 가용성 전당이 13.80% 포함되어 있었다. 그외 조단백, 조지방, 회분, 조섬유가 각각 7.39, 0.33, 5.29, 2.78% 함유되어 있었다.

배양조건이 발효에 미치는 효과

배양조건에 따른 배양 1, 2, 4일째의 발효액의 pH, 적정산도, 총당질, 환원당, 생균수, 알코올 농도 등은 Table 1~3, Fig. 1과 같다. 발효 도중에도 이들의 변화에 관하여 조사하였지만 표에는 생략하였다.

배양온도 : 배양온도가 25, 30, 35, 40°C로 조정된 배양기에서 24시간 진탕배양하고, 72시간 정지배양한

후의 알코올 생성량은 Table 1과 같이 30, 35, 25, 40°C의 순으로 높았으며 이는 적정산도와 거의 비례하였다. 35, 40°C의 고온에서는 가용성 전당이 적음에도 불구하고 알코올 농도가 낮았으며 균체중식은 발효 4일째에는 25°C에서 가장 많았으나 발효 1, 2일째에는 30°C에서 가장 왕성하였다. 이와 같은 결과는 *Kluyveromyces fragilis*를 이용하여 돼지감자 착즙액으로 알코올 발효 실험시 김 등(2)은 최적온도를 30°C로 설정하였고, Margaritis 등(24)과 Guirand 등(14)은 35°C 부근으로 발표한 것과 거의 일치하였다.

초기 pH : 배양 초기 pH가 4.00인 경우는 배양 4일 후에 4.10으로 약간 증가하였고, pH가 6.00일 경우는 4.57로, pH 7.00은 4.70으로 초기 pH가 현저히 떨어졌다. 적정산도는 배양 중 증가하였는데 초기 pH가 높을수록 증가폭이 적었으며, 배양 4일 후에 적정산도는 pH 7에서 가장 낮았다. 그리고 미생물 농도는 배양 2일 기준으로 볼 때 pH 5~6에서 높았다. 알코올 농도는 pH 5.44에서 6.65%로 가장 높았고 pH 6에서 6.45%, pH 5에서 6.30% 순으로 좋았으며 pH 7에서는 4.5%로 낮았다. 이는 pH 5~6에서 미생물이 잘 생육하였고 알코올 발효에 앞서 inulase 생성 및 작용이 잘 되었기 때문으로 추측된다. 이는 Margaritis 등(24)에 의해 *K. fragilis*의 inulase 최적 pH가 5.5이고 변 등(3)과 남 등(25)에 의해 inulase 작용 최적 pH가 5.0~5.5로 보고된 바와 같으며 목 등(22)은 전체 ethanol 생산량이 pH 5.5에서는 2.13g ethanol/l/h인 반면 pH 3.5에서는 2.09g ethanol/l/h로 pH 5.5에서 높음을 보여 주었다.

공기 공급량 : 알코올 발효는 완전 혐기상태의 대사과정으로 이루어지나 대부분의 효모는 산소를 growth factor로 필요로 한다. 따라서 통기조건에서 효모의 성장속도는 혐기성 조건에서 보다 훨씬 크기 때문에 소량의 산소 첨가로 알코올 발효를 촉진시키고 inulase의 생성을 증가시키므로 inulin의 가수분해도 증가되어 알코올 발효시간도 단축될 수 있다. 그러나 Table 1과 같이 산소 공급량이 많을수록 균체중식이 증가된 반면 알코올 함량은 0 Nl/min에서는 5.60%이고 0.5, 1, 2, 4 Nl/min에서는 각각 5.15, 4.70, 1.95%로 알코올 생성량이 감소됨을 보여주었다. 이는 Margaritis 등(26)의 결과와 같이 당이 균체 중식을 위하여 이용되었고, 산소가 존재하면 *K. fragilis*는 ethanol을 소모하여 성장을 계속한다는 Guirand 등(27)의 보

Table 1. Effect of fermentation conditions on the production of ethanol by *Kluyeromyces marxianus*. The culture was incubated in 15% Jerusalem artichoke medium at 30°C for a day with shaking and then for 3 days without shaking

Fermentation condition		pH	Titrate acidity	Total saccharide (%)	Reducing sugar (%)	Viable cell number per ml	Ethanol (%)
Temperature(°C)	25	4.62	63.88	0.45	0.17	5.00×10^7	4.85
	30	4.55	83.55	0.42	0.16	3.45×10^7	6.65
	35	4.55	83.25	0.34	0.24	3.70×10^7	5.05
	40	4.75	64.89	0.25	0.14	3.00×10^6	3.95
Initial pH	4.00	4.10	82.50	0.95	0.20	4.80×10^6	6.20
	5.00	4.45	77.97	0.92	0.20	1.17×10^7	6.30
	6.00	4.57	79.47	0.89	0.18	1.49×10^7	6.45
	7.00	4.70	65.14	0.93	0.13	1.49×10^7	4.50
	5.44	4.56	81.24	0.91	0.12	6.45×10^7	6.65
Aerations (Nl/min)	0	4.69	66.35	0.22	0.26	1.16×10^7	6.10
	0.5	5.22	53.32	0.95	0.22	7.15×10^7	5.25
	1.0	4.75	50.30	1.05	0.30	2.95×10^8	5.25
	2.0	4.60	63.38	1.02	0.22	1.55×10^8	5.20
	4.0	4.86	42.25	0.83	0.23	2.53×10^9	2.45
Agitation* (rpm)	0	4.60	63.38	1.02	0.22	1.55×10^7	5.20
	50	4.63	60.27	1.09	0.22	2.60×10^8	5.20
	100	4.62	66.40	0.75	0.13	1.20×10^8	5.40
	200	4.68	54.32	0.88	0.18	1.44×10^8	5.25
	400	4.90	34.20	0.91	0.24	7.05×10^8	3.80
Amount of inoculum (%)	2.5	4.60	66.48	0.92	0.14	2.25×10^7	6.40
	5	4.59	62.62	0.80	0.13	2.00×10^7	6.20
	10	4.57	68.00	0.69	0.26	1.10×10^7	5.96
	20	4.60	69.16	0.73	0.20	5.65×10^7	6.70
Amount of medium(%)*	500	4.54	62.88	1.10	0.23	1.73×10^8	4.70
	750	4.68	54.32	0.88	0.18	1.44×10^8	5.25
	1000	4.50	63.38	0.77	0.25	1.61×10^8	5.65
	1500	4.75	59.35	0.77	0.17	8.30×10^7	5.40

*Using a 2.5 l-jar fermenter.

고와 관계되며 또 통기에 의하여 생성된 알코올이 일산되는데 그 일산속도는 통기속도가 높을수록 증가될 것으로 사료된다.

교반속도 : Table 1과 같이 교반속도가 증가할수록 pH가 감소하고 적정산도가 증가하였다. 그 변화 폭은 매우 적어 400 rpm의 경우 배양 4일 후의 적정산도는 34.20으로 배양 초기와 유사하였다. 알코올 농도는 100 rpm에서 가장 높았다.

효모의 접종량 : Table 1과 같이 효모의 접종량에 따른 pH와 적정산도의 차이는 거의 없었으며 24시간 배양 후 균체수도 거의 비슷하게 나타났다. 알코올

농도는 접종량 20%에서 6.8%로 가장 높았으나 2.5, 5, 10%에서도 비슷하게 나타나는 것으로 보아 접종량은 최저량인 2.5%로 접종하여도 알코올 생산에는 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다.

배지의 양 : Table 1과 같이 배지량은 다른 조건에 비하여 알코올 생성량에 큰 차이는 없었으나 배지량이 1,000 ml/일 때 알코올 농도가 가장 높았다.

소포제의 첨가 : Table 2와 같이 소포제를 첨가하지 않은 배양액의 알코올 농도는 배양 4일 후에 5.45% 이었다. 소포제의 첨가는 알코올 농도를 증가시켜 antifoam A concentrate는 0.01~0.10% 처리구에서

Table 2. Effect of antifoam agents on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* from Jerusalem artichoke. The culture was incubated at 30°C and initial pH 5.44 for a day with shaking and then 3 days without shaking

Antifoam agent	Concentration(%)	Ethanol(%)
Control		5.45
Antifoam A concentrate	0.01	6.70
	0.05	6.10
	0.10	6.45
Polyoxyalkylene glycol derivative	0.01	5.25
	0.05	5.70
	0.10	5.18
Span 80 (sorbitan monooleate)	0.01	5.70
	0.05	6.15
	0.10	5.00
Calcium carbonate (CaCO ₃)	0.10	6.05
	0.50	5.55
	1.00	5.00

Table 3. Effect of nitrogen sources on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* from Jerusalem artichoke at 30°C and initial pH 5.44 for a day with shaking and then 3 days without shaking

Nitrogen source	Concentration (g/ml)	Ethanol concentration(%)		
		1st day	2nd day	4th day
Control		5.75	5.80	6.55
Ammonium phosphate monobasic (NH ₄ H ₂ PO ₄)	0.05	6.25	6.30	6.55
	0.10	5.80	6.35	6.10
	0.20	5.70	5.90	6.00
Potassium nitrate (KNO ₃)	0.05	5.70	6.10	6.22
	0.10	5.85	5.85	6.30
	0.20	5.60	5.85	6.50
Sodium nitrate (NaNO ₃)	0.05	6.00	6.30	6.05
	0.10	6.10	6.15	6.20
	0.20	6.10	5.86	6.10
Urea	0.05	6.63	6.35	5.65
	0.10	6.05	6.45	6.40
	0.20	5.40	6.35	6.25

6.10~6.70%, polyoxyalkylene glycol은 0.01~0.10% 처리구에서 5.18~5.70%, Span 80은 0.01~0.05% 처리구에서 5.70~6.15%, calcium carbonate는 0.10~0.50% 처리구에서 5.55~6.05%의 ethanol을 생성하여 무처리구의 5.45% 보다 높은 알코올 농도를 보였다.

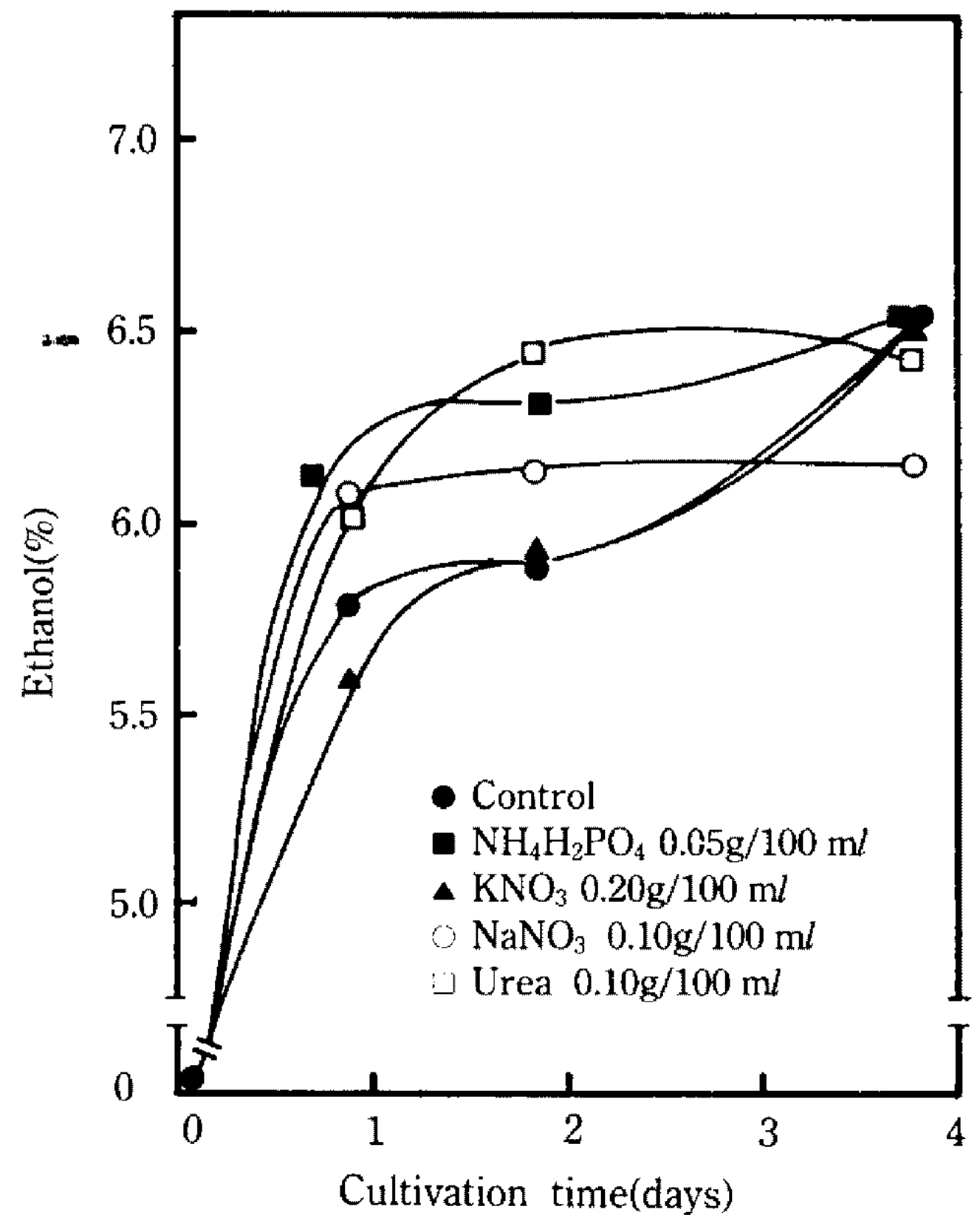


Fig. 1. Effect of nitrogen sources on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* in the liquid medium of Jerusalem artichoke powder.

그 중 0.01%의 antifoam A concentrate는 현저하게 높은 6.70%의 알코올 농도를 보였다. 목 등(22)은 *K. fragilis*의 inulase 생성이 Tween 60, 80, 85의 첨가로 촉진된다고 보고하였고 Tween 80을 첨가시 2.09g ethanol/l/h을 얻은 반면, 첨가하지 않았을 때는 1.89g ethanol/l/h로 알코올 생성량이 적음을 보고한 바 있다. 또한 소포제 첨가에 의하여 미생물 세포벽의 투과성이 증가되어 세포내 효소의 유출이 촉진되어 inulase의 분해가 용이하게 되어 알코올 발효가 촉진된다는 보고도 있다.

질소원의 첨가 : Table 3, Fig. 1과 같이 potassium nitrate를 제외한 질소원의 첨가는 배양 1, 2일 후에 무처리구보다 알코올 발효율이 현저하게 높았고 4일 경과 후에는 실험구간에 차이가 없었다. 즉, 질소원의 첨가로 발효 중기까지는 알코올 발효가 촉진되는 경향을 보였다. 0.05~0.10% urea, 0.05% ammonium phosphate, 0.05~0.20% sodium nitrate 첨가구는 배양 1일에 벌써 6.00~6.63%의 높은 알코올 농도를 보였는데 특히 urea의 효과가 현저하였다. 이는 urea를 첨가함으로써 소포제의 첨가와 같이 효모에

inulase 활성도가 증가되어(14) 환원당의 생성이 많았기 때문으로 추측되며, *Penicillium* sp.를 사용한 돼지감자의 inulin 분해시의 ammonium phosphate의 첨가로 fructose의 생산을 증가시킬 수 있다는 보고(28)와 같은 경향으로 생각된다.

최적 조건에서의 알코올 발효

이상의 실험결과를 토대로 알코올 발효 최적 조건, 즉 온도 30°C, pH 5.44(돼지감자 자체의 pH), 산소공급량 0 NI/min, 교반속도 100 rpm, 효모의 접종량 2.5%, 배지의 양 1,000 ml, 소포제로 antifoam A concentrate(0.01%)를, 질소원으로 urea(0.1%)를 첨가하여 배양시 발효액의 성분 변화를 검토한 결과는 Table 4, Fig. 2와 같다.

초기에 배양액의 pH가 6.30, 적정산도가 22.55%이었던 것이 배양 하루만에 pH는 4.96으로 떨어지고 적정산도는 65.13으로 증가하였으며 그 후 완만한 변화를 보였다. 최적 pH는 5.44이나 urea의 첨가로 초기 pH가 높았으며 그 때문에 효모의 생육이 지연된 것으로 보인다. 배양 초기에 13.67%이던 총당질은 배양 하루만에 거의 분해되어 1.42%로 낮아졌고 환원당도 5.96%에서 0.23%로 거의 소비되었다. 그러므로 배양 하루만에 ethanol 농도가 현저하게 높은 6.25%를 보였고 4일 후에는 6.80%로서 대부분의 알코올이 배양 하루만에 생성되었다.

위 실험과 동일한 고형물 농도 조건에서 생돼지감자를 착즙하여 실험한 결과 ethanol 농도는 6.87%로 돼지감자 분말보다 약간 높게 나타났다. 그러나 생돼지감자의 착즙액이나 마쇄액의 inulin 농도는 한계가 있으므로 발효액의 ethanol 농도는 한계가 있을 것이다. 본 실험에서 수행한 돼지감자 분말의 농도는 15%이었다. 점조성 때문에 고농도 배양이 어렵겠지만

돼지감자 분말의 농도를 20~25%로 올릴 수 있다면 일반 전분기질 발효에서처럼 고농도의 알코올을 얻을 수 있을 것으로 기대되므로 고농도 기질에서의 발효 실험이 계속 진행되고 있다. 돼지감자의 저장성을 고려해 볼 때 발효액의 분말농도가 15% 이상이 되면 생돼지감자의 발효보다 유리할 것으로 생각된다.

알코올과 acetaldehyde 함량

발효시켜 얻은 알코올(6.80%)을 gas chromatograph에 의해 분석한 결과, 발효액 기준으로 methanol은 49.32 ppm, n-propanol은 44.06 ppm, iso-butanol은 24.46 ppm, n-butanol은 45.60 ppm, iso-amylal-

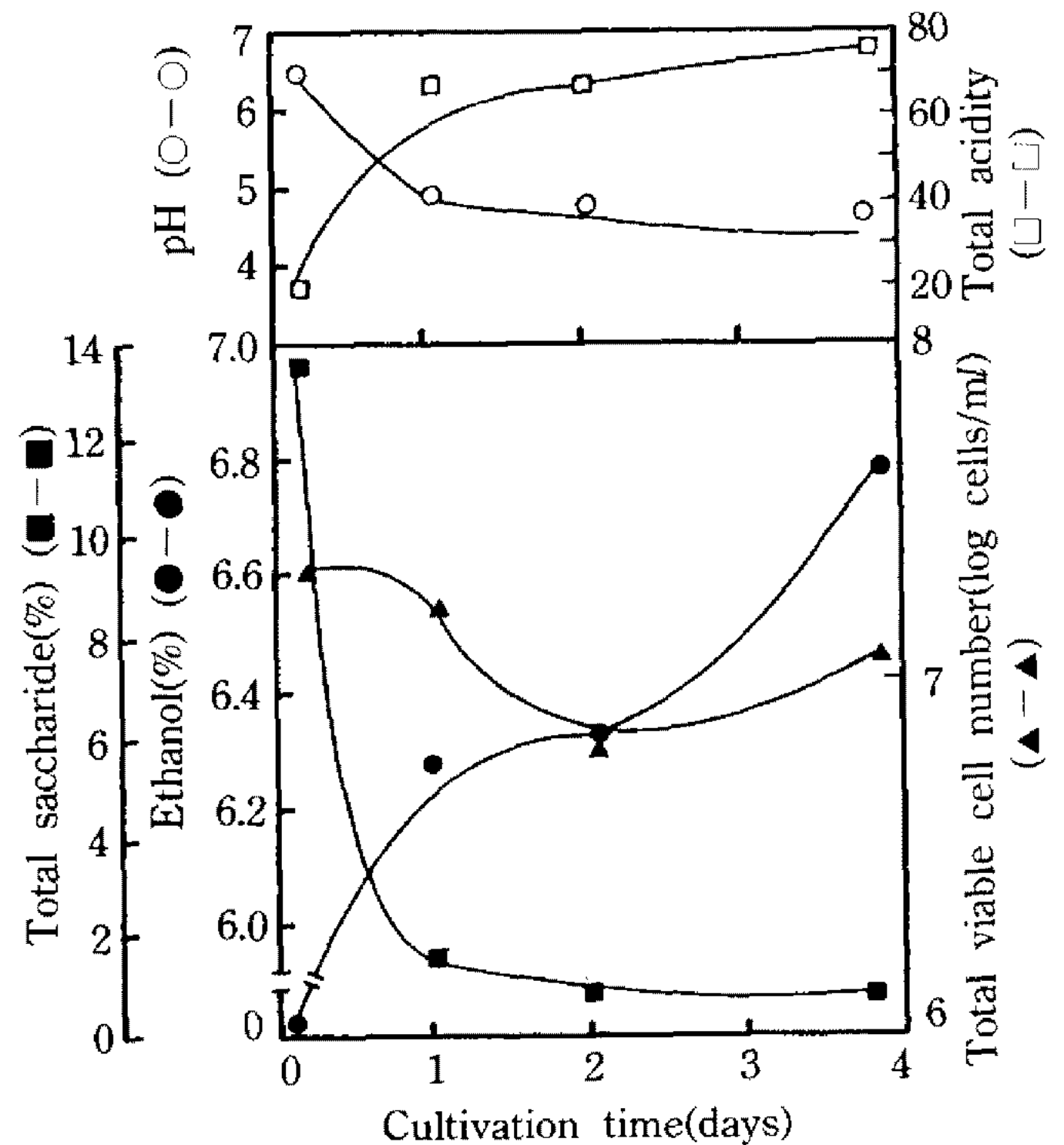


Fig. 2. Changes in chemical composition and viable cell number of Jerusalem artichoke medium under the optimized condition of fermentation by *Kluyveromyces marxianus*.

Table 4. Fermentation properties and production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* under the optimum condition

Incubation period (days)	pH	Titrate acidity	Total saccharide (%)	Reducing sugar (%)	Viable cell number per ml	Ethanol (%)
0	6.30	22.55	13.67	5.96	2.14×10^7	
1	4.96	65.13	1.42	0.23	1.70×10^7	6.25
2	4.85	65.13	0.87	0.19	7.50×10^6	6.35
4	4.73	76.12	0.73	0.23	1.30×10^7	6.80

cohol은 114.22 ppm이었으며 acetdehyde는 165.82 ppm이었다.

요 약

돼지감자 분말로부터 대체에너지용 알코올을 생산하기 위하여 우수 inulin 자화 균주로 알려진 *Kluyveromyces marxianus* UCD(FST)55-82로 알코올 발효 최적 배양조건을 조사한 바 배양 최적 온도 30°C, 최적 pH 5.44(돼지감자 자체의 pH), 교반속도 100 rpm, 배지의 양 1,000 ml(2.5 l jar fermenter), 통기하지 않은 상태에서 알코올 생성률이 가장 높았으며 효모의 접종량은 배지량의 2.5%로 충분하였다. 또한, 0.01% antifoam A concentrate(silicon polymer)와 0.1% urea의 첨가는 알코올 농도를 효과적으로 증가시키고 발효기간을 단축시켰다. 이와 같은 최적 조건에서 총당질은 배양 하루만에 89.62%가 분해되어 알코올 생성 수율이 91.91%, 알코올 productivity가 2.71g ethanol/l/h이었고 배양 4일 후에는 0.71g ethanol/l/h으로 발효액의 알코올 농도는 6.8%가 되었다.

감사의 말

본 연구는 동력자원부 대체에너지 기술개발 사업(1989), "이눌린을 위한 알코올 발효"의 지원 연구비에 의하여 이룩된 연구결과의 일부로, 동력자원부와 에너지관리공단에 깊은 감사를 드리는 바입니다. 또한 본 실험에 사용된 균주인 *Kluyveromyces marxianus*를 분양해주신 Univ. of California-Davis의 Mary Miranda 연구원에게도 감사드립니다.

참고문헌

1. Yan, V. and S.C. Trindade: *Chem. Eng. Prog.*, **79**, 11 (1973)
2. 유연우, 김철호, 김수일: 한국생물공학회지, **13**, 51 (1984)
3. 최영남, 김수일, 변시명: 한국농학회지, **27**, 45 (1983)

4. 유연우, 김철호, 김수일: 한국농학회지, **26**, 119 (1983)
5. 유연우, 김신제, 김수일: 한국농학회지, **27**, 45 (1984)
6. Durnjak, Z., N. Kosaric and R.D. Hayes: *Biotechnol. Lett.*, **3**, 589 (1981)
7. Magaritis, A. and P. Bajpai: *Biotechnol. Bioeng.*, **24**, 941 (1982)
8. 이계준: 한국생물공학회지, **11**, 311 (1983)
9. Fleming, S.Z. and Z.W.D. Gootwassik: *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, **11**, 1 (1979)
10. Kim, K. and M.K. Hamdy: *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 316 (1985)
11. Azhar, A. and M.K. Hamdy: *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 879 (1981)
12. Azhar, A. and M.K. Hamdy: *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 1297 (1981)
13. Chua, J.W., N. Fukui., Y. Wakabayashi., T. Yoshida and H. Taguchi: *J. Ferment. Technol.*, **26**, 123 (1984)
14. Guirand, J.P., J. Dawelles and P. Galzy: *Biotech. Bioeng.*, **23**, 1461 (1981)
10. Margaritis, A. and P. Bajpai: *Biotech. Bioeng.*, **24**, 1473 (1982)
16. Margaritis, A., J. Fahar and A. Merchant: *Biotech. Bioeng.*, **24**, 2297 (1982)
17. Margaritis, A., P. Bajpai and E. Cannell: *Biotech. Lett.*, **3**, 595 (1981)
18. Margaritis, A. et al.: *Der. Ind. Microbiol.*, **24**, 321 (1983)
19. Margaritis, A. et al.: *J. Ferment. Technol.*, **61**, 533 (1983)
20. Zybro, G. et al.: *Der. Ind. Microbiol.*, **24**, 313 (1983)
21. 유연우, 김철호, 김수일: 한국생물공학회지, **12**, 51 (1983)
22. 목영일: 한국 과학재단 보고서 (1984)
23. 이계호: 식품과학, **18**, 25 (1985)
24. Margaritis, A. and P. Bajpai: *Biotech. Bioeng.*, **30**, 306 (1987)
25. Nam, B.H. and H.J. Phaff: *J. Biol. Chem.*, **233**, 2483 (1962)
26. Margaritis, A. and F.J.A. Merchant: *Biotech. Lett.*, **5**, 271 (1983)
27. Guirand, J.P., J.M. Caillaud and P. Galzy: *European J. Appl. Microbiol. Biotech.*, **14**, 81 (1982)
28. Lyness, E. and H.W. Doelle: *Biotech. Bioeng.*, **23**, 1449 (1981)

(Received February 22, 1991)