

효모의 포말분리

서근학·*남기두
부산수산대학교 화공과·*일산실업(주)연구실

Foam Separation of Yeast Cells

Kuen Hack Suh and Ki Du Nam

Department of Chemical Engineering, National Fisheries University of Pusan

*Lab. II San Trading Co, Ltd, Pusan

ABSTRACT

A bath foam separator has been used to separate yeast cells from their culture broth without the use of any surface-active agents. The cell separation ratio was improved in proportion to a separator level and nitrogen flow rates. Percentage of yeast removal after 3 minutes of operation was more than 90. The cell separation ratio was also improved by the addition of 0.2g/l CaCl₂.

서론

배지에서 Cell을 분리 및 농축하여 재사용하는 방법으로 주로 원심분리법이 이용되고 있다. Cell 원심분리법은 별도의 분리 및 회수장치 설비와 운전압력 증가 등으로 인한 운전경비 증가가 공업화의 단점으로 대두한다. Cell을 분리 및 농축하여 재사용하기 위하여 포말분리법(Foam Separation)이 최근에 연구(1-3)되어지고 있다. 포말분리법은 용액 내에 존재하는 미량성분(무기물, 유기물 및 단백질)을 제거하기 위한 효과적인 방법으로 주로 계면활성제를 첨가한 다음 하부에 공기를 공급하여 기-액계면에서 흡착되는 미량성분을 제거한다(4, 5). 계면활성제에 의하여 Cell을 분리 및 회수할 경우 Cell의 활성을 감소시킬 수 있으므로, Cell을 회수하여 재사용할 경우 계면활성제를 이용하지 않아야 한다. 포말분리법은 기체가 배지를 통과할 경우 기-액 계면에 소수성 표면을 가진 Cell이 많이 흡착되는 현상을 이용하는 것으로 계면활성적인 Cell은 액본체보다 기-액계면에서 높은 농도를 나타낸다. 포말이 분리관을 나올 경우 액체 동반량은 매우 적어 배출되는 포말에 존재하는 농축된

Cell 농도는 액본체의 Cell 농도에 비하여 매우 높으므로, 에탄올 연속 발효시 생성물과 함께 손실되는 효모를 효과적으로 분리 및 재순환하여 발효조 내부의 효모 농도를 증대하여 에탄올 생산성을 증대하기 위한 새로운 방법으로 연구될 수 있다.

본 연구의 목적은 회분식 포말 분리관에 Cell 용액을 충전하여 분리실험을 수행하며 Cell 분리능의 특성 등에 대한 온도와 pH, 기체공급량, Cell 농도, 액면높이 및 CaCl₂ 첨가 등의 변화에 따른 포말 분리관의 특성 Cell 농도의 변화에 분리능 및 안정성 등을 관찰하여 배지에서 Cell을 분리하기 위한 최적 조건을 구하려 한다.

재료 및 방법

회분식 포말 분리관

포말 분리관은 내경 3cm이고 높이 35cm인 폴리아크릴관과 Glass Filter(pore size: G3)를 연결시켜 제작하여 실험에 사용하였다. 시료 채취구는 Glass Filter 10cm 상부에서 5cm 높이 간격으로 5개 설치하였다.

사용배지

균 배양 배지는 Cysewski(6) 등이 사용한 조건과 동일하게 제조하여 사용하였다. 포도당과 영양분은 별도로 1N-H₂SO₄을 이용하여 pH 5.0되게 조절한 후 121°C에서 20분간 멸균하여 냉각 후 혼합하였다.

사용균주

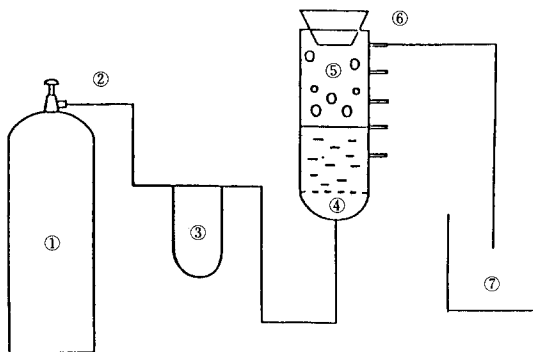
본 연구에 사용한 균주는 에탄올 발효시 생성물과 함께 유출되는 효모를 효과적으로 분리하기 위한 분리 특성을 연구하기 위하여 에탄올 발효능이 우수한 *Saccharomyces uvarum* (ATCC 26602)을 일산실업(부산 문현동 소재)으로부터 사면배지 형태로 분양받아 이용하였다. 10%(w/v) 포도당 배지 150ml를 취한 500ml의 삼각 플라스크에 접종하여 진탕기(150 strokes/min)에 넣고 30°C에서 40시간 배양하여 실험에 이용하였다.

분석방법

효모농도는 Furusaki(7) 등이 사용한 방법에 따라 분광광도계를 이용하여 600nm에서 시료를 적정한 배율로 희석하여 0.D 값과 건조된 효모량 간의 보정선을 이용하여 농도를 구하였다.

실험방법

포말 분리실험을 위한 장치는 Fig. 1과 같이 배치하였다. 질소 실린더의 질소 기체는 유량계를 통과하여 가열 테이프로 온도가 30°C±0.5°C로 일정하



- 1. N₂ Gas cylinder
- 2. Pressure valve
- 3. Flowmeter
- 4. Gas distributor
- 5. Foam separator
- 6. Foam outlet
- 7. Beaker for foam collection

Fig.1. Schematic diagram of experimental arrangement.

게 조정되는 회분식 포말 분리관에 공급되어, 질소 유량이 일정하게 되면 포말분리관 상부에 효모용액을 충전하였다. 기체가 효모용액을 통과할때 발생한 포말을 액면 상부의 배출구에서 제거하였다. 포말시료는 1분 간격으로 모았으며 동시에 액체시료는 액층에서 1ml 제거하여 효모농도를 분석하였다. 시간이 경과함에 따라 포말은 불안정하게 되어 파괴되면 실험을 중지하였다. 포말은 Silicon KM-72(신월화학)으로써 파괴하였다.

결과 및 고찰

회분식 포말 분리관에서 효모분리의 실험을 수행하며 액면 높이, 질소기체 공급량, 효모농도, pH, 온도 및 첨가물 CaCl₂ 변화에 따른 포말형성 및 분리 특성을 관찰하였다. 포말 형성 특성의 재현성을 증대시키기 위하여 효모용액의 pH와 온도영향실험을 제외하고 배지의 pH는 5, 온도 30°C로 일정하게 유지하였다.

액면 높이 영향

포말 분리관의 액면 높이에 따른 cell 분리특성 영향을 연구하기 위하여 공급 질소유량을 120ml/min 되게 유지하여 액면 높이가 10, 15, 20 및 25cm 되도록 효모용액을 가한 후 1분 간격으로 액본체와 5cm 높이 거품층에서 효모농도를 구하여 Fig. 2에 시간변화에 따른 효모분리비(C_f/C_b)를 도시하였

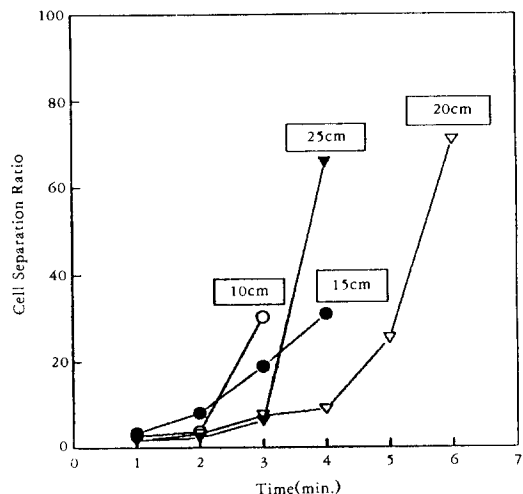


Fig.2. Effect of separator height on cell separation ration with time of operation.

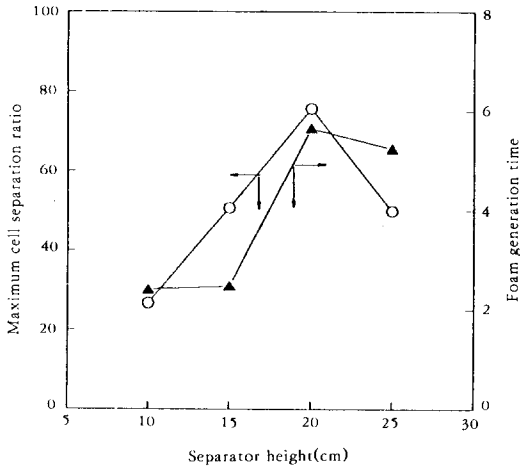


Fig. 3. Maximum cell separation ratio and foam generation time with time of operation.

다. 포말이 형성되는 시간은 3~6분 정도였으며 Fig. 3에 액면 높이에 따른 최대 효모 분리비를 도시하였다. 액면 높이가 20cm인 경우에 최대 효모 분리도인 70.6을 얻을 수 있었으며, 포말 생성시간이 6분으로 가장 길어 액면 높이를 20cm되게 하여 포말 분리 실험을 진행하는 것이 바람직하였다.

질소 공급량 영향

포말 분리관에 공급하는 질소 공급량 변화에 따른 cell 분리특성 영향을 연구하기 위하여 공급되는 질소 공급량을 70, 120, 150, 169.5, 200ml/min되게 하여 1분 간격으로 포말과 액본체의 효모농도를 구하여 시간변화에 따른 효모 분리비를 Fig. 4에 도시하였다. 한편, 도시한 효모 제거율(%)은 다음과 같이 계산한다.

$$\text{효모 제거율}(\%) = \left[1 - \frac{\text{분리관 효모}}{\text{분리관 내부}} \right] \times 100$$

공급되는 질소량이 증대할수록 생성되는 포말량이 증대하였으나 포말 생성시간은 짧아졌다. 유량 120ml/min인 경우 포말생성은 4분 동안 지속되었으며 비교적 높은 효모 분리도인 61.1을 얻었다. 공급되는 질소량이 증대할수록 생성되는 포말량이 증대하였으나 포말 안정성이 감소하여 포말의 생성 기간은 짧아졌다. 한편 공급되는 질소 기체량이 증대할수록 시간 변화에 따른 효모 제거율은 증대하였으나 질소 기체 공급량이 120ml/min 이상인 경우, 시간 변화에 따른 효모 제거율은 비슷하였으며, 3분

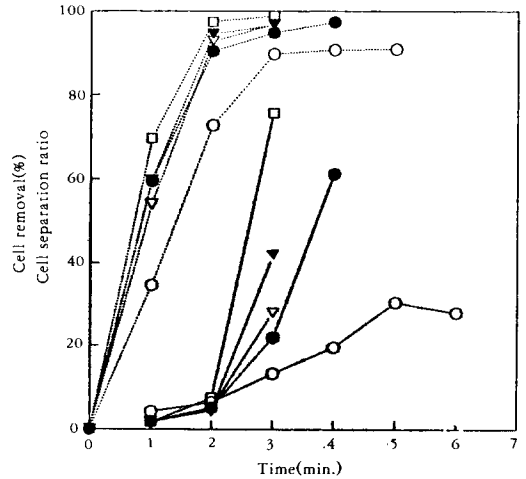


Fig. 4. Effect of nitrogen flow rate on cell separation ratio and percentage of cell removal. Continuous lines represent cell separation ratio, whereas dotted lines imply cell removal(%). Symbols are for various flow rates at 70(○), 120(●), 150(▽), 169.5(▼), 200ml/min(□).

분리운전 후 액본체 효모 농도의 94% 이상이 제거되어 매우 효과적인 효모분리법이였다. 따라서 본 실험에서는 질소 공급량을 120ml/min으로 유지하며 분리실험을 수행하였다.

효모농도의 영향

포말 분리관에 충전한 효모용액의 효모농도를 1.05, 3.92, 5.2, 8.4g/l로 변화시켰을 때의 cell 분리특성을 살펴보았다. Fig. 5에 도시한 바와 같이, 효모 농도가 증가할수록 효모 분리도가 증가하였는데 효모 농도가 5.2g/l 인 경우 최대효모분리도는 60.44이고 포말 생성시간은 5분으로 가장 높은 효모분리비와 포말 생성시간을 얻을 수 있었다. 효모 농도가 증가할수록 효모 제거율(%)은 증가하였으나 효모 농도가 3.92~8.4g/l 인 경우에는 시간변화에 따른 효모 제거율이 비슷하여, 분리 운전이 3분 경과 시 92% 이상이 제거되어 짧은 시간에 효모를 효과적으로 제거할 수 있었다.

pH 영향

포말 분리관에 충전하는 효모용액의 pH 변화에 따른 cell 분리특성을 연구하기 위하여 1N-NaOH와

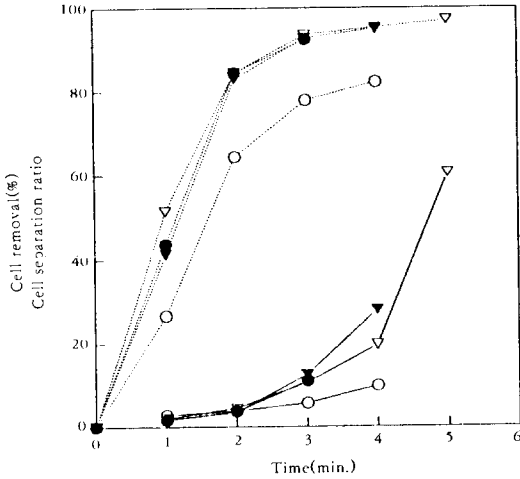


Fig. 5. Effect of yeast concentration on cell separation ratio and percentage of cell removal. Continuous lines represent cell separation ratio, whereas dotted lines imply cell removal(%). Symbols are for various yeast concentration at 1.05(○), 3.92(●), 5.2(▽), 84g/l (▼).

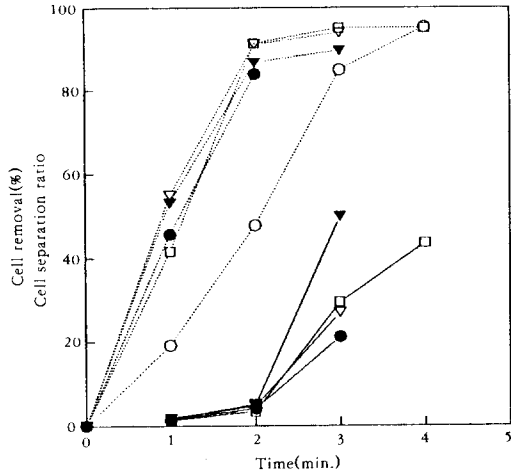


Fig. 6. Effect of pH cell separation ratio and percentage of cell removal. Continuous lines represent cell separation ratio, whereas dotted lines imply cell removal(%). Symbols are for various pH at 3(○), 4(●), 5(▽), 6(▼), 7(□).

1N-HCl 용액으로 충전하는 효모용액의 pH를 3, 4, 5, 6 및 7로 되게 하여 포말 분리실험을 수행하였다. 1분 간격으로 포말과 액본체의 효모농도를 구하여 시간변화에 따른 효모 분리도와 효모 제거율을 Fig. 6에 도시하였다. pH가 증대할수록 포말의 안정성을 증대하였다. pH가 4 이상인 경우 포말 생성시간이 비슷하고 pH가 6인 경우 효모 분리도가 가장 높았으며 이때 효모 분리도는 49.87이었다. pH가 7인 경우는 효모 분리비가 pH가 6인 경우보다 감소하였다. 효모 제거율은 pH가 3인 경우를 제외하고 pH가 5~7 범위에서는 pH 영향을 별로 받지 않았는데, 3분 분리운전 후 액본체 효모농도의 90% 이상이 제거되었다.

온도 영향

포말 분리관에 효모용액을 충전하여 효모용액의 온도 변화에 따른 cell 분리 특성 영향을 연구하기 위하여 효모용액의 온도를 26, 31, 36°C 변화시키는데 따른 효모 분리도는 Fig. 7과 같다. 용액의 온도가 높을수록 시간변화에 따른 효모 분리도가 증가하였으나 효모 제거율은 비슷하였다. 용액의 온도상승에 따른 효모분리비 증가는 용액의 온도가 상승할수

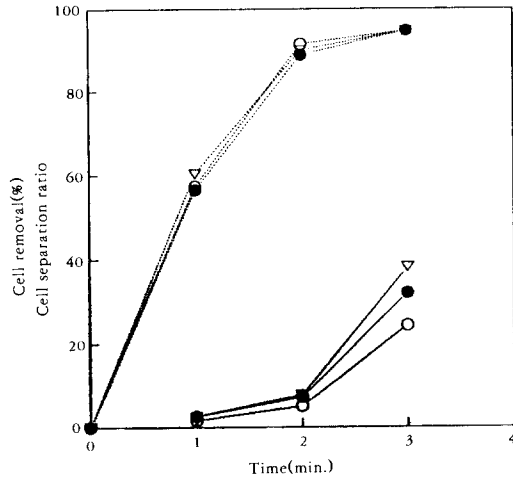


Fig. 7. Effect of temperature on cell separation ratio and percentage of cell removal. Continuous lines represent cell separation ratio, whereas dotted lines imply cell removal(%). Symbols are for various temperature at 26°C(○), 31°C(●), 36°C(▽).

록 포말의 크기가 커져서 공기량 증대의 효과를 야

기시켜 효모 분리비가 증가하는 것으로 추측된다.

첨가물 CaCl₂ 영향

효모의 응집성을 증대하는 첨가물로 CaCl₂가 가장 많이 알려져 있다(8, 9). 따라서 효모의 응집성이 포말분리법에 미치는 영향을 연구하기 위하여 효모 용액에 CaCl₂를 첨가하여 그의 농도가 0, 0.1, 0.2, 0.5 및 1.0g/l 되게 하여 포말 분리실험을 수행하였으며, 그 결과를 Fig. 6에 도시하였다. CaCl₂ 농도가 0.1~0.2g/l 에서는 효모 분리도가 증대하였으나, 0.5g/l ~0.1g/l 범위에서는 CaCl₂를 첨가하지 않은 용액의 효모 분리비보다 감소하였다. 따라서 포말분리를 효과적으로 수행하기 위하여 효모의 응집성을 증대하는 CaCl₂ 농도의 농도를 0.2g/l 유지함이 바람직하였다.

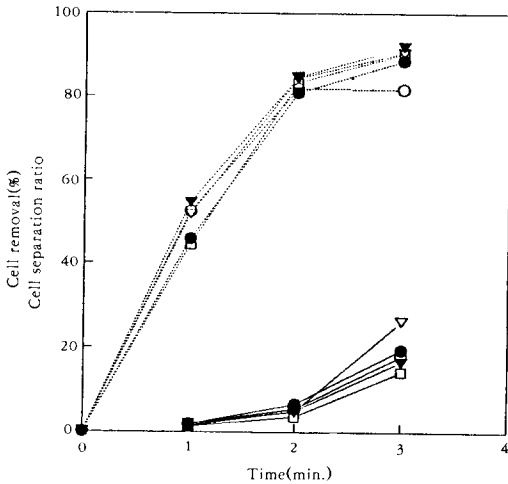


Fig. 8. Effect of pH cell separation ratio and percentage of cell removal. Continuous lines represent cell separation ratio, whereas dotted lines imply cell removal(%). Symbols are for various pH at 3(○), 4(●), 5(▽), 6(▼), 7(□).

요 약

회분식 포말분리관에 효모용액을 충전하여 효모

분리실험을 수행하며 효모 액면 높이, 질소 공급량, 효모농도, pH와 온도 및 CaCl₂ 첨가 등의 변화에 따른 포말 분리관의 분리 및 특성 등을 연구하였다. 액면 높이가 20cm인 경우 최대 효모분리비 70.6을 얻을 수 있었고 포말 생성시간도 6분으로 가장 길었다. 질소 공급량이 120ml/min인 경우 3분 분리운전 후 액본체 효모의 90~94%가 제거되어 매우 신속하고 효과적인 분리법이었다. 효모농도가 3.92~8.4g/l 범위가 pH가 5~7 범위에서 분리시간에 따른 효모 제거율은 비슷하였다. 효모용액의 온도가 26~36℃ 범위에서 온도가 상승할수록 분리시간에 따른 효모 분리비가 증대하였다. 효모의 응집성을 증대하는 CaCl₂ 농도는 0.2g/l 일 때 효모 분리비가 가장 높았다.

감 사

본 연구는 1992년도 과학재단 기초 연구과제 연구비로 수행되었으며 이에 대하여 감사를 드립니다.

참고문헌

1. S. Parthasarathy and R. Kumar(1988), *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 174.
2. H. Viehweg and K. Schugerl(1983), *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **17**, 96.
3. K. H. Bahr and K. Schügerl(1992), *Chem. Eng. Sci.*, **47**, 11.
4. R. Lemlich(1972), "Adsorptive Bubble Separation Techniques", Academic Press New York.
5. A. N. Clarke and D. J. Wilson(1972), "Foam Flotation", Marcel Dekker, INC, New York.
6. G. R. Cysewski and C. R. Wilke(1977), *Biotechnol. Bioeng.*, **19**, 1125.
7. S. Furusaki and M. Seiki, *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2921.
8. P. J. Mill(1964), *J. Gen Microbiol.*, **35**, 61.
9. U. Ustanl and K. Esser(1983), *Eur. J. Appl. Microbiol. biotechnol.*, **17**, 199.