

## 기포계수식 발효가스 발생량 계측시스템의 개발

李榮振\* · 全在根

서울대학교 식품공학과, \*(주)농심

### Development of Gas Production Measurement System by Bubble Counting during Fermentation

Young-Jin Lee\* and Jae-Kun Chun

Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon  
\*Nong Shim Co., Ltd., Kunpo

#### Abstract

A bubble counter was designed and fabricated for the measurement of gas production rate on the basis of number of bubbles produced from yeast fermentor. The sensor was consisted of bubble forming device and electronic signal processing circuitry. The bubble forming device was built with bubble collector and liquid cell to form uniform size of bubble. Bubbles were counted by pulses formed by photo-interrupter circuitry having 8-bit binary latch counter. The gas production rate curves on the basis of bubble counted showed a good agreement to that of growth curves obtained by the optical measurement method. The sensor was successfully applied to monitoring of the nutrient utilization test with glucose and galactose media.

Key words: bubble sensor, bubble counter, fermentation, gas production measurement, photo-interrupter

#### 서 론

발효공정은 미생물의 대사를 이용하여 이루어지고 있기 때문에 대사 산물의 변화량은 공정의 상태를 대변하고 있으며 특히 기체를 발생하는 발효에서 발생 가스량과 주 발효산물의 생성이 밀접한 관계를 갖고 있을 경우 가스발생량을 측정하는 것으로 발효상태를 감지할 수 있다<sup>1, 3)</sup>. 그러나 가스의 측정을 위해 시료를 채취할 때 발효환경의 변화를 가져올 수 있으므로 발효공정에서는 미생물의 활동에 영향을 주지않고 계측하는 방법이 공정제어를 위하여 바람직하다<sup>4, 6)</sup>.

가스 발생량의 측정은 일반적으로 Warburg Manometer<sup>7)</sup>와 같은 기압측정법이 사용되어 왔으며 최근 이, 전 등<sup>4,5)</sup>은 전자식 압력센서를 응용하여 계측하는 방법을 보고하였다. 그리고 동 압력센서를 김치발효에 응용하여 김치발효의 진행상태를 컴퓨터에 접속하여 monitoring 하는 방법을 개발하였다. 그러나 압력 계측방법은 정확성은 있으나 발효가 진행됨에 따라 용기내 내부압력의 축적이 발생하여 미생물의 생육환경에 변화를 가져오는 단점이 있었다.

따라서 본 연구는 가스발생에 의한 압력의 축적없이 가스량을 on-line monitoring 할 수 있는 센서를 개발하고자 하였다. 즉 발효조에서 발생가스를 포집하여 일정한 크기의 기포로 만든 후 기포의 수를 계수할 수 있는 장치를 전자식 광학소자와 IC counter 등을 활용하여 제작하고 computer system에 접속할 수 있는 장치를 개발하고자 하였다. 그리고 개발된 센서와 computer system을 효모배양에 응용하여 발효공정에 활용할 수 있는지를 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 균주 및 배지

효모배양에 사용한 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*이며, YPD 배지에서 12시간 진탕배양(30°C)하여 활성화한 후 종균으로 사용하였다. 효모 배양액으로는 Table 1과 같이 탄소원을 달리한 배지를 사용하였고 종균의 접종량은 1%(v/v)이었고 배양온도는 30°C에서 배양하였다.

##### 균체량 측정

배양액의 균체량은 분광광도계(Spectrophotometer, Philips, PU8600)를 사용하여 520 nm에서의 흡광도를 측정하여 균체의 농도 단위로 하였다.

Corresponding author: Jae-Kun Chun, Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

**Table 1. Compositions of media for yeast fermentation**

Component	Dextrose medium	Galactose medium
yeast extract	0.5% (w/v)	0.5% (w/v)
bacto peptone	0.5%	0.5%
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1%	0.1%
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1%	0.1%
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.2%	1.2%
galactose	—	2%
dextrose	2%	—
initiaial pH	5.6	5.6
fermentation temp.	30°C	30°C

**가스포집 및 기포형성장치**

발효액에서 생산되는 기체를 동일한 크기를 갖는 기포의 수로 측정할 수 있는 장치를 개발하기 위하여 기체를 포집할 수 있는 깔대기 형태의 포집장치와 포집된 가스를 일정한 크기의 미세기포로 만들 수 있는 기포형성장치를 설계, 제작하였다.

**기포계수장치**

기포형성장치에 의하여 만들어진 기포가 상승하는 동안 일정장소에 설치된 광학소자의 적외선 영역을 통과하게하고 이때 발생하는 광의 산란현상을 감지하여 기포의 존재를 측정할 수 있도록 하였다. 즉 기포에 의한 광의 간섭파형을 Photo-interrupter(EESB5, Omron)으로 구성된 신호처리장치에서 pulse로 나타날 수 있도록 제작하였다. 한편 계속된 pulse는 counter(74LS393)로 계수할 수 있도록 하였다<sup>(8-10)</sup>.

**데이터 수집장치**

기포수 계측장치에 의하여 측정되어진 가스발생량을 monitoring 하고 분석하기 위하여 이를 microcomputer에 접속할 수 있는 접속장치를 설계,제작하여 사용하였다<sup>(11-15)</sup>.

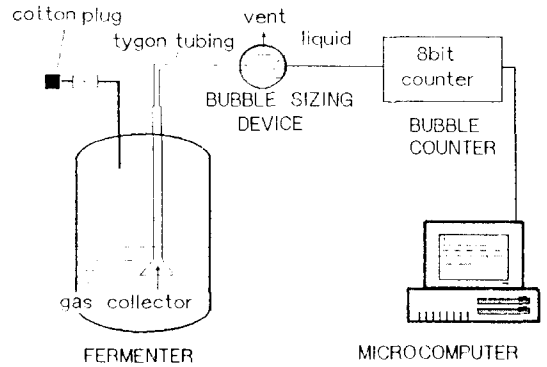
**결과 및 고찰**

**기포수 계측 센서의 구조 및 계측회로**

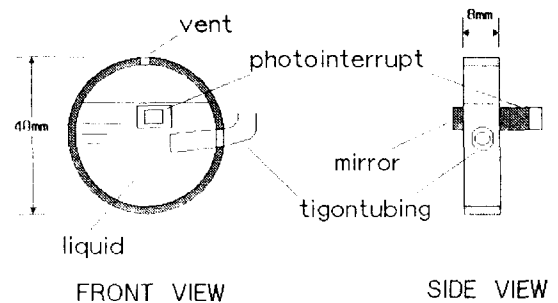
가스발생량 측정시스템의 구조는 크게 가스 포집부, 미세기포 형성부, 기포수 계수부, 컴퓨터 인터페이스부로 구분되며 이들의 설치상태는 Fig.1과 같다.

**가스포집부 :** 가스포집은 발효조내의 발생가스의 일부를 효율적으로 포집하기 위하여 깔대기형으로 제작하였으며 발생가스의 대부분이 발효조 밖으로 배출되게 하여 가스측정에 의한 내부압력상승을 가져오지 않도록 제작하였다.

**기포형성 및 계수부 :** 가스포집부에서 포집된 가스는 유도관을 통하여 액체가 일정 높이로 담긴 기포발생부로



**Fig. 1. Biogas measurement system with bubble counter in fermentation process**



**Fig. 2. Structure of the biogas bubble counter**

이송되어지고 기포발생부에서는 orifice를 통과하여 일정크기의 기포로 만든뒤 상승하도록 하였다. 상승하는 기포는 photo-interrupter를 통과할 수 있도록 Fig.2와 같이 설계하였고 기포수 계측장치는 아크릴로 제작하였다.

기포의 크기를 일정하게하고 유도관 내부의 압력을 최소화하기 위하여 액체의 높이는 가능한 낮게 되도록 설계하였고 기포의 원활한 상승을 위하여 기포수 계수 장치의 폭을 8 mm로 하였다. 따라서 photo-interrupter는 8 mm 이상에서 사용할 수 있는 반사형으로 제작하였다.

기포가 광로를 통과할 때 일어나는 간섭효과는 photo-interrupter에 의하여 전기파형으로 얻어지나 매우 미약한 신호이기 때문에 전압증폭 트랜지스터(C1815) 등의 소자를 사용하여 증폭회로를 제작하였고 기포의 계면간섭에 의하여 발생하는 중복계수 및 미세수 현상을 방지하기 위하여 일정전압 이상의 pulse만을 계수할 수 있는 Schmidt trigger inverter를 사용한 pulse 계측회로를 첨가하였다. 계측된 기포수 값은 일정기간 동안 누적될 수 있도록 counter 회로를 첨가하였으며 계측회로는 Fig.3과 같다.

**컴퓨터 접속부 :** 계측된 기포수는 8-bit microcomputer와 접속하여 on-line monitoring과 자료 분석을 할 수

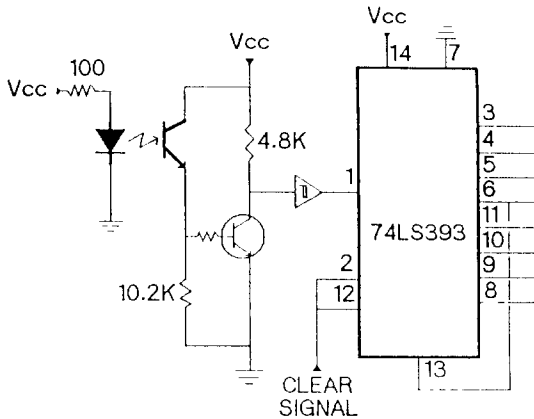


Fig. 3. Circuit of the biogas bubble counter

있도록 interface장치를 설계, 제작하였다. 인터페이스장치는 컴퓨터와 병렬통신을 할 수 있도록 하였으며 latch된 기포계수 값을 읽어 들이거나 카운터 값을 reset시키는 시간간격 등을 프로그램할 수 있도록 제작하였다. 계수기로 사용된 8-bit counter IC는 한번에 최대 255의 계수값을 가질 수 있으므로 계수값이 상한치에 도달하기 전에 계수된 값을 컴퓨터에 전송하고 컴퓨터가 이 값을 받아들인 뒤 Fig. 3의 counter IC의 2번과 12번 핀에 신호를 보내 새로운 계수를 하도록 제작하였다.

기포계수 값과 발생가스량과의 관계

기포계수장치로부터 계측한 값과 실제 발생한 가스량과의 관계는 직선적인 상관관계를 보였으며 발생기포 1개의 체적은 0.020 ml이었고 오차는 0.0005 ml 이었다.

발효가 진행되는 동안의 발효관 내부의 압력은 상압으로 일정하게 유지되었으며 가스포집장치의 유도관에만 7 mm H<sub>2</sub>O 내외의 압력이 형성되었다. 이는 기포발생장치의 Fig. 2와 같은 구조에서 기인하는 것으로, 기포형성장치의 수면과 기포 유출부간의 位置頭(potential head)에 해당되는 압력임을 알 수 있었다<sup>16)</sup>.

기포수 계측방법을 이용한 효모의 배양공정 계측

Table 1의 dextrose 배지에서 효모를 배양하여 이때 발생하는 가스를 기포계수장치로 계측한 값과 균체의 농도를 측정할 결과, Fig. 4와 같은 양상의 곡선을 얻었다. 흡광도로 측정된 균체의 생육곡선의 양상은 기포계수장치에 의하여 측정된 곡선의 양상과 아주 유사함을 보여주었다. 기포의 발생수로 표현되어진 가스발생곡선의 변곡점 부근에서부터 균체농도의 증가가 멈추는 현상이 수차례의 반복 실험에서 잘 일치하였다.

이와 같은 결과로 미루어 볼 때 기포수 계측장치에 의한 가스발생량의 측정 은 효모의 배양공정에 있어서 생육곡선 작성에 커다란 도움을 줄 수 있으며 균 생육 상태를 감지하는 대응변수로의 이용 가능성 또한 높다고

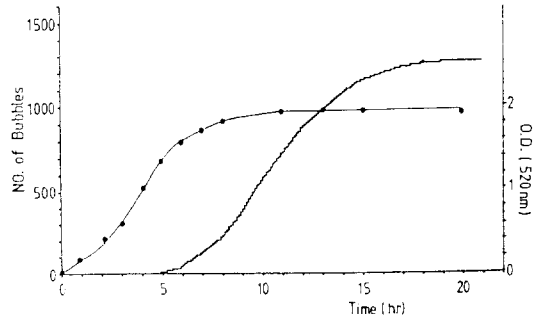


Fig. 4. Relationship between the amount of gas production obtained with bubble counter and cell growth curve

●—●; O.D., — ; Bubble

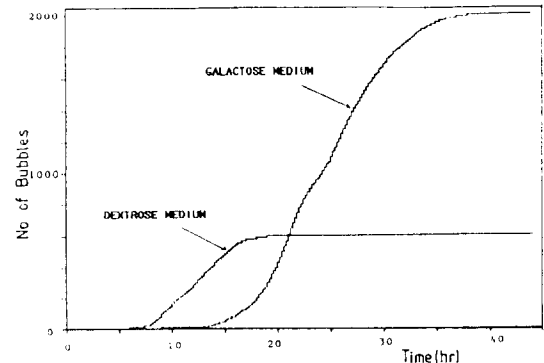


Fig. 5. Gas production curves obtained with the biogas bubble counter at different carbon sources

기대된다.

기포수계측방법을 이용한 효모의 기질 소모성 계측

Table 1과 같이 기질의 조성중 당원 만을 달리한 두 개의 배지에서 효모를 30°C 에서 배양하며 발생된 기포수를 계측한 결과 Fig. 5와 같은 곡선을 얻었다.

즉 dextrose 배지에서는 약 7시간 만에 가스발생량을 보인 뒤 20시간 후에는 가스발생량을 보이지 않은 반면, galactose 의 경우에는 약 13시간만에 가스발생을 보이기 시작하여 38시간에 이르러 가스의 발생이 멈출을 볼 수 있었다. 즉 galactose를 탄소원으로 배양한 것이 dextrose를 탄소원으로 배양한 것에 비하여 초기에 탄소원을 이용하는데 상당시간이 더 필요함을 알 수 있었다. 이는 본 배양 이전의 seed-culture에서 dextrose를 사용한 종균을 접종하는데서 오는 현상이라고 생각된다. 즉 접종 초기의 효모는 dextrose 이용 체제로 있다가 galactose 이용체제로 전환하는데 소요된 시간이라 생각된다. 이러한 결과로 볼 때, 기포수계측방법 및 고안된 가스발생량 계측 장치는 미생물의 생리 연구에도 매우 유용하게

이용될 수 있음을 보여주었다.

## 요 약

Yeast 발효공정에서 발생하는 가스량을 전자적으로 monitoring 할 수 있는 새로운 기포수 측정 센서를 설계, 제작하였다. 본 기포센서는 기체를 발생하는 발효공정에 적용할 수 있으며 공정의 상태와 환경에 아무런 변화를 주지 않도록 설계하였다. 그 구조는 가스포집부, 기포형 성부, 전자식 기포감지부와 컴퓨터 접속장치로 구성하였다. 기포 측정부는 photo-interrupter와 counter IC 등을 사용하였다. 제작된 센서와 컴퓨터 시스템은 효모 배양공정에 활용하여 발효진행과정을 자동적으로 monitoring 하는데 성공하였으며 발효공정에서 발생된 기포 수의 값으로 작성된 가스발생량 곡선은 효모의 생육곡 선의 양상과 매우 유사한 모양을 보였으며 배양액의 기질영양원이 달리한 발효공정을 monitoring한 결과 기 질이용 특성도 정확하게 표현할 수 있었다.

## 문 헌

- 李榮振, 全在根: 김치발효 중 가스압력 변화와 압력측 정시스템의 개발. 한국식품과학회지, 22(6), 186(1990)
- 全在根: 마이크로 프로세서를 이용한 가정용 김치제조 기의 개발. 산학협동재단연구보고서 (1987)
- Erdman, M.D. and Delwiche, S.R.: Low-cost digital counting interface for fermentation gas measurement. *Biotech. Bioeng.*, 27, 569-571(1985)
- Stanbury, P.F. and Whitaker, A.: Principles of Fermentation Technology. Pergmon Press (1984)
- Voget, H.C.: Fermentation and Biochemical Engineering Handbook. Noyes Publication (1983)
- Krumpharzl, V.: *Overproduction of Microbial Products*, Academic Press (1987)
- Dixon, M.: *Manometric Methods*, 2nd ed., MacMillan, New York(1943)
- Omron: 광전소자종합카타로그, Catalogue No.26-001, 73-74(1983)
- 황규섭: 센서활용기술, 기전연구사(1985)
- 梅地 正 外 著, 全在昇 譯: 센서인터페이스 No4, 기전 연구사(1986)
- Coffran, J.W. and Long, W.E.: *Practical Interfacing Techniques for Microprocessor System*, Prentice-hall (1983)
- Digital Research: *Pascal/MT+Reference Manual Programmer's Guide*, Digital Research(1983)
- 최부돌, 전재근: 마이크로 컴퓨터 계측 및 제어시스템을 활용한 식품건조 중 자료의 수집과 제어. 한국식품과학회지, 19(3), 200(1987)
- Mano, M.M.: *Computer system architecture*, 2nd ed., Prentice hall (1982)
- Zaks, R.: *Programming the Z80*, 3rd ed., Sybex(1982)

(1993년 3월 22일 접수)