

## *Kluyveromyces marxianus* F043의 Alginate 고정화와 에탄올 발효특성

이희숙 · 신지현 · 최언호\*

서울여자대학교 식품과학과

**초록** : 돼지감자 분말을 원료로 에탄올 생산성을 향상시키기 위한 전실험으로 *Kluyveromyces marxianus* F043을 고정화시켜 sucrose 배지에서 고정화 조건과 발효조건을 조사한 결과 alginate 농도는 2%, bead 직경 2 mm, 고정화 균주의 배양기간 24시간, particle input ratio 30 : 100, 기질농도 10%(w/v), pH와 온도는 각각 5.5, 40°C 가 최적으로 나타났으며 pH 4.5~6.5, 온도 30~45°C 에서 높은 농도의 에탄올을 생성하여 고정화하지 않은 효모보다 넓은 pH와 온도 안정성을 보였다. 최적조건에서 회분발효를 실시한 결과 에탄올 농도는 46.4 g/L, 에탄올 생산성은 1.93 g/L.h이었고 최적조건에서 배양된 bead의 단면을 위상차 현미경으로 관찰해 본 결과 균주세포가 bead의 표면에 밀집되어 있었다(1995년 1월 3일 접수, 1995년 2월 22일 수리).

### 서 론

Biomass의 발효로부터 생산되는 에탄올은 연소적 특성이 석유와 비슷하여 석유의 대체에너지로 각광을 받고 있다. Biomass중 관심 대상은 사탕수수과 돼지감자(*Jerusalem artichoke: Helianthus tuberosus* L.)이다. 돼지감자는 그 주성분이  $\beta(2-1)$ 결합의 fructan인 inulin으로 비환원성 말단에 sucrose 잔기를 갖고 있다.

에탄올의 생산성을 증가시키기 위한 방법으로 세포를 불활성 담체나 gel에 고정화시킨 후에 발효를 연속적으로 수행하는 방법이 연구되어 왔다. 균체를 고정화시키는 방법은 마이크로캡슐법, 흡착법, 포괄법, 가교법, 공유결합법 등이 있는데 에탄올 연속발효 공정에서는 주로 포괄법이 연구되고 있다.<sup>1)</sup> 포괄법의 담체로는 온도변수에 의하여 겔화하는 k-carrageenan,<sup>2,3)</sup> agar,<sup>4)</sup> collagen,<sup>5)</sup> gelatin,<sup>6)</sup> 이온에 의하여 겔화하는 sodium alginate,<sup>7)</sup> chitosan<sup>8)</sup> 등이 천연중합체로 많이 이용되고 있다. 그 중 sodium alginate는 천연중합체의 고분자물질로써  $Ca^{2+}$ ,  $Al^{3+}$  과 같은 다가 양이온의 존재하에서 쉽게 포괄될 수 있으므로 고정화 조건이 용이하고 비교적 안정된 형태의 구형을 이루며 발효중에 유출되는 균체의 양이 상대적으로 적다는 장점을 지니고 있다.<sup>7)</sup>

본 연구실에서는 돼지감자를 당화과정 없이 직접 에탄올을 고농도로 생산하는 *Kluyveromyces marxianus* F043을 분리하였다.<sup>9)</sup> 그리하여 고정화 효모를 돼지감자 기질에 적용하기 앞서 sucrose를 기질로 하고 sodium alginate를 담체로 하여 연속발효를 고려한 전단계 실험으로 *K. marxianus* F043의 고정화 조건과 에탄올 발효 특성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

찾는말 : 에탄올 발효, 고정화, *K. marxianus*

\*연락처자

### 사용 균주

본 연구실에서 분리<sup>9)</sup>한 *K. marxianus* F043을 YPD(1L 수용액 중 yeast extract 10 g, peptone 20 g, dextrose 20 g) 사면배지에 접종하여 30°C 에서 24시간 배양후 4°C 에 보관하고 1주일 간격으로 계대하여 사용하였다.

### 고정화 방법

YPD 액체배지에 *K. marxianus* F043을 접종하여 30°C 에서 24시간 배양하고 3,000 rpm에서 3분 동안 원심 분리시켜 상정액을 제거한 후 YPD 액체배지와 동량의 증류수에 균체를 섞어 전체 alginate 용액의 20%가 되는 효모 현탁액을 만들었다. 이 현탁액과 2% sodium alginate(Showa) 용액을 잘 혼합하여 균일하게 만든 후 peristaltic pump(Eyela MP-3, Japan)를 사용하여 2%  $CaCl_2$  용액에 방울 상태로 떨어뜨리면서 alginate bead를 제조하였다. Bead의 직경은 공기의 유속에 따라 2~4 mm로 조절하였다. 견고성을 부여하기 위해 효모가 고정화된 alginate bead를 2%  $CaCl_2$  용액에 24시간 담그어 놓은 뒤 발효배지로 옮겼다.

### 발효 배지

에탄올 생산 기본배지로 sucrose 100 g, yeast extract 5 g, peptone 5 g,  $H_2PO_4$  1 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1 g,  $NH_4H_2PO_4$  12 g을 증류수 1L에 녹여 500 ml 삼각 플라스크에 100 ml씩 넣고 121°C 에서 15분간 가압멸균하여 사용하였다.

### 고정화 조건

#### 1) 배양 기간

고정화된 효모의 배양기간에 따른 에탄올 생성을 알아보기 위해 10% sucrose 배지에 3% sodium alginate로

고정화된 효모를 100:30의 비로 접종하고 30°C 에서 처음 1일은 100 rpm으로, 그 다음 2, 3, 4일은 50 rpm으로 진탕배양하여 24시간마다 에탄올 함량을 측정하였다.

2) Sodium alginate의 농도

Sodium alginate의 농도를 2~4%로 각각 달리하였을 때 고정화된 효모의 생존력과 에탄올 발효능을 검토하기 위해 10% sucrose 배지에 고정화된 효모를 100:30의 비로 접종하고 30°C 에서 24시간 진탕배양(100 rpm)하여 생존력과 에탄올 함량을 측정하였다.

3) Bead size

Alginate bead 제조시 공기의 속도로 bead의 크기를 2, 3, 4 mm가 되도록 조정된 후 크기에 따른 고정화된 효모의 생존력과 에탄올 발효능을 검토하기 위해 10% sucrose 배지에 2% sodium alginate로 고정화된 효모를 100:30의 비로 접종하고 30°C 에서 24시간 진탕배양(100 rpm)하여 생존력과 에탄올 함량을 측정하였다.

4) Particle input ratio

효모를 고정화할 때 사용되는 alginate 용액의 양과 발효배지의 비에 따른 고정화된 효모의 생존력과 에탄올 발효능을 검토하기 위해 2% alginate 용액과 발효배지의 비를 30:100, 50:100, 100:100으로 다르게 조정하고 10% sucrose 배지로 30°C 에서 24시간 진탕배양(100 rpm)하여 생존력과 에탄올 함량을 측정하였다.

에탄올 발효

1) 기질 농도

Sucrose의 농도를 5, 10, 15, 20%로 달리하여 30°C 에서 24시간 진탕 배양한 후 에탄올 함량과 pH, 적정산도, 잔당 함량을 측정하였다. 이 때 alginate의 농도는 2%, bead 직경은 2 mm, particle input ratio는 30:100으로 조정하였다.

2) pH

Sucrose 배지의 pH를 3.5, 4.5, 5.5, 6.5로 각기 달리하였을 때 고정화된 효모의 에탄올 발효능을 검토하기 위해 10% sucrose 배지에 고정화된 효모를 100:30의 비로 접종하고 24시간 100 rpm으로 진탕배양한 뒤 에탄올 함량을 측정하였다.

3) 온도

발효온도의 영향을 검토하기 위해 10% sucrose 배지에 고정화된 효모를 100:30의 비로 접종하고 발효온도를 각각 25, 30, 35, 40, 45, 50°C 로 조정된 후 24시간 100 rpm으로 진탕배양하고 에탄올 함량을 측정하였다.

성분 분석 및 Kinetic parameter

pH는 발효액 10 ml을 취하여 pH meter(Toa Electro-

rics Ltd., Japan)로 측정하였고 적정산도는 발효액 10 ml에 증류수 40 ml를 넣고 0.1 N NaOH 용액을 pH 8.3이 될 때까지 적하하여 시료 100 ml당 소비된 0.1 N NaOH 용액의 ml 수를 적정산도로 표시하였다. 잔당은 발효액 10 ml에 증류수 40 ml과 0.1 N HCl 15 ml을 가하여 30 분간 끓이고 0.1 N NaOH 용액으로 중화시킨 후 환원당을 Somogyi 방법으로 정량하여 glucose로 환산하였다. 에탄올은 발효액 100 ml와 증류수를 500 ml 삼각 플라스크에 넣고 단순 증류시켜 증류액 100 ml를 받고 Gay-Lussac meter에 의하여 정량하였다. 생존력은 고정화된 bead를 소량 취해 포화 sodium tripolyphosphate 용액 (100 g/L)에 넣어 alginate를 완전히 녹인 후<sup>10)</sup> 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 gel 부스러기를 제거하고 methylene 염색액을 넣어 염색 및 비염색 세포를 hemacytometer로 계수하였다. 고정화 효모의 기질 흡수율 (specific substrate uptake rate,  $-r_s$ )은 다음과 같이 계산하였다.

$$-r_s = (V_{max} \times S) / (K_m + S) : \text{Michaelis-Menten equation (g/L)}$$

$V_{max}$ : 최대 비반응 속도 (g/L · day)  
 $K_m$ : Michaelis 상수 (g/L)  
 $S$ : 기질의 농도 (g/L)

형태학적 관찰

최적조건에서 배양된 alginate bead를 100 ml beaker에 넣고 3% sodium alginate 용액을 부어 준 뒤 여기에 2% CaCl<sub>2</sub> 용액을 넣고 alginate가 견고해질 때까지 여러시간 방치해 두었다. 완전히 견고해진 뒤 alginate에 새겨져 있는 bead를 면도칼로 얇게 잘라 bead의 단면을 위상차 현미경(two phase contrast microscope, Olympus BH-2)으로 조사하였다.<sup>11)</sup>

결과 및 고찰

고정화 최적조건

1) 배양 기간

3% sodium alginate에 고정화시킨 *K. marxianus* F043을 10% sucrose 배지에서 배양하였을 때 배양기간에 따른 에탄올 생성의 변화를 검토한 결과는 Table 1과 같다. 배양 하루만에 에탄올 수율은 0.43, 생산된 에탄올

Table 1. Effect of cultivation period on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* F043

	Cultivation period (days)			
	1	2	3	4
Ethanol (% w/v)	4.25	4.21	4.13	3.61
Ethanol yield	0.43	0.42	0.41	0.36
Ethanol yield to theoretical value (%)	81.27	80.51	78.98	68.84
Ethanol productivity (g/L·h)	1.77	0.87	0.57	0.38

Table 2. Effect of alginate concentration, bead size and particle input ratio on the cell viability and ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* FO43

	Viability (%)	Ethanol conc. (% w/v)	Ethanol yield to theoretical value (%)	Productivity (g/L · h)
Alginate conc. (%)				
2	69.23	4.91	93.89	2.05
3	70.95	4.64	88.73	1.93
4	80.60	4.29	82.04	1.79
Bead size (mm)				
2	65.23	4.21	80.51	1.75
3	67.29	4.18	79.93	1.74
4	66.67	4.29	82.04	1.79
Particle input ratio				
30 : 100	50.99	4.21	80.51	1.75
50 : 100	42.75	3.93	75.15	1.64
100 : 100	33.59	3.53	67.50	1.47

Table 3. Effect of sucrose concentration on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* FO43

	Sucrose concentration (%)			
	5	10	15	20
pH	3.50	3.30	3.35	3.30
Titration acidity (ml 0.1 N NaOH/100 ml)	65.5	72.5	67.5	72.0
Residual saccharide (%)	0.03	1.04	4.63	10.85
Ethanol (% w/v)	2.06	4.18	4.18	4.64
Ethanol yield	0.41	0.42	0.29	0.23
Ethanol yield to theoretical value (%)	76.58	77.70	51.80	43.12
Ethanol productivity (g/L · h)	0.86	1.74	1.74	1.93
Specific uptake rate of immobilized cell	21.04	34.53	43.88	50.74

농도는 42.5 g/L이었다. 에탄올 농도는 배양기간이 지남에 따라 42.5 g/L에서 36.1 g/L로 오히려 감소함을 볼 수 있는데 이것은 생산된 에탄올이 배양 기간중 휘발되었거나 기질로 이용되었기 때문으로 추측된다. 그러므로 10% sucrose 배지를 기질로 하여 고정화된 *K. marxianus* FO43을 배양할 때 배양기간은 24시간이 적합하다고 사료된다. 한 등<sup>12)</sup>은 10% glucose 배지에서 고정화된 제빵 효모를 이용하여 회분배양한 결과 최대 에탄올 농도에 도달하는데 필요한 시간이 30시간이라고 하였다.

## 2) Alginate 농도

Alginate 농도에 따른 고정화 *K. marxianus* FO43의 생존력과 에탄올 발효력을 검토하기 위해 alginate 농도를 2, 3, 4%로 달리하여 10% sucrose 배지에서 24시간 진탕배양한 결과는 Table 2에 있다. Alginate의 농도가 높을수록 에탄올 발효력이 저하되는 결과가 나왔는데 이것은 고분자의 gel이 형성될 때 좀 더 치밀하고 견고성이 증가되기 때문에 gel의 구멍 크기가 작아져서 mass transfer가 떨어지기 때문이라고 생각된다. Table

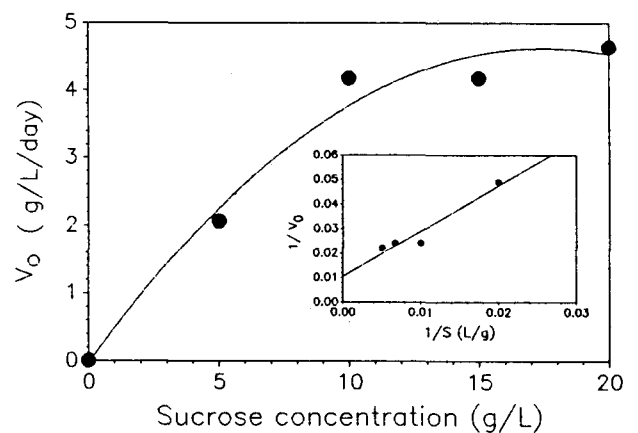


Fig. 1. Determination of  $K_m$  and  $V_{max}$  value of immobilized *Kluyveromyces marxianus* FO43 (Lineweaver-Burk value of batch fermentation data using immobilized yeast).  $r^2=0.97$ ,  $V_{max}=95.68$  g/L/day,  $K_m=177.13$  g/L/day.

2의 결과로 alginate 농도는 2%가 적당하다고 판단된다. 이 결과는 조 등<sup>13)</sup>이 *Saccharomyces cerevisiae*를 Na-alginate에 고정화시켰을 때 bead의 기계적 강도가 강하면서 세포의 증식속도가 높은 것은 2.0~2.5%라고 보고한 것과 유사한 결과이며 한 등<sup>12)</sup>이 제빵 효모를 고정화시켰을 때 적합한 Na-alginate 농도가 2%라고 보고한 것과 일치한다.

## 3) Bead size

Bead size에 따라 2% sodium alginate에 고정화된 효모의 생존력과 에탄올 발효력을 검토하기 위해 bead size를 2, 3, 4 mm로 달리하여 10% sucrose 배지에서 24시간 진탕배양한 결과는 Table 2에 있다. Bead size는 다른 조건에 비해 에탄올 발효력과 생존력에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 본 실험에서는 size 2 mm를 선택하여 실험하였다.

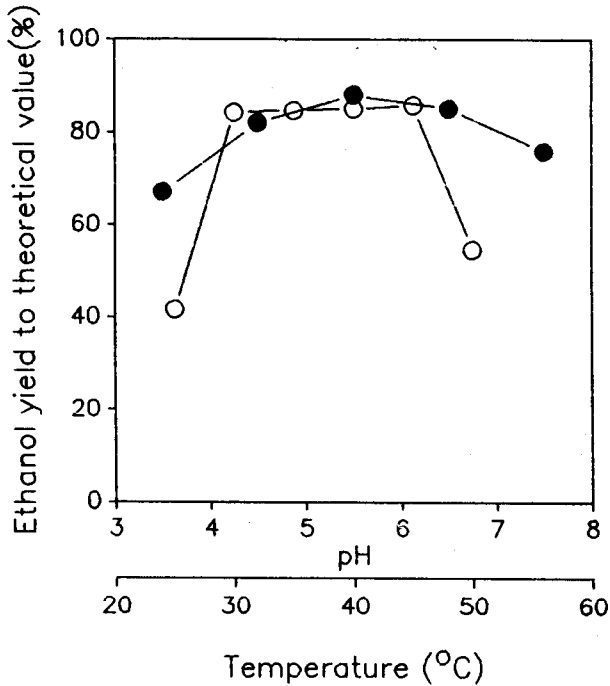


Fig. 2. Effect of pH and temperatures on the production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* F043. ○—○ Temperature; ●—● pH.

Table 4. Fermentation properties and production of ethanol by *Kluyveromyces marxianus* F043 under optimum condition

	Incubation period (hours)	
	0	24
pH	5.53	3.93
Titration acidity	28.5	66.7
Residual saccharide (%)	9.72	0.23
Ethanol (% W/V)		4.64
Ethanol yield		0.48
Ethanol yield to theoretical value (%)		88.70
Ethanol productivity (g/L·h)		1.93
Viability (%)	87.2	58.7

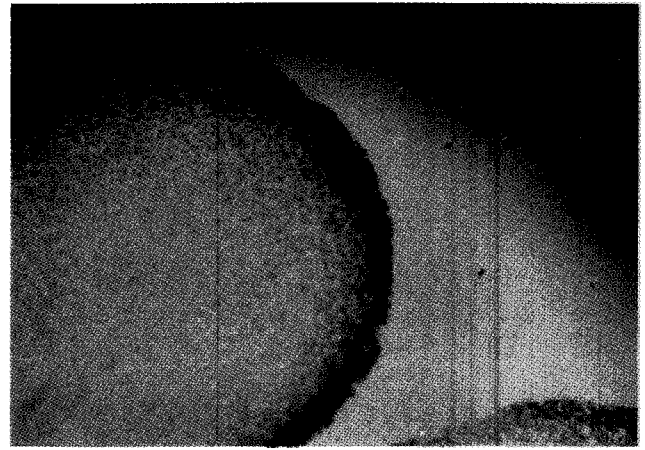
4) Particle input ratio

효모를 고정화할 때 사용되는 alginate 용액의 양과 발효배지의 비에 따른 고정화된 효모의 생존력과 에탄올 발효능을 검토하기 위해 30 : 100, 50 : 100, 100 : 100으로 alginate 용액과 발효배지의 비를 다르게 하여 10% sucrose 배지에서 24시간 진탕배양하여 생존력과 에탄올 함량을 측정 한 결과는 Table 2와 같다. Table 2의 결과에서 particle input ratio 는 30:100 이 적당하다고 사료된다.

발효 최적조건

1) 기질 농도

2% sodium alginate에 *K. marxianus* F043을 고정화



(A)



(B)

Fig. 3. *Kluyveromyces marxianus* F043 cells immobilized in sodium alginate. A, The sectioned bead (×100); B, The surface of sectioned bead(×400).

시켜 24시간 진탕배양하는 동안 sucrose 농도에 따른 성분변화와 kinetic parameters를 Table 3과 Fig. 1에 표시하였다. 이론치에 대한 에탄올 수율은 10% 배지에서 77.70%로 가장 높았고 에탄올 생산성은 10%, 15% 배지에서 모두 1.74 g/L·h로 가장 높았다. 이론치에 대한 에탄올 수율과 에탄올 생산성이 가장 높은 것은 10% 배지이므로 24시간 진탕배양동안 최적 sucrose 농도는 10%가 적합하다고 판단된다.

2) pH

2% sodium alginate에 고정화한 *K. marxianus* F043을 초기 pH가 3.5~7.5인 10% sucrose 배지에 접종하여 24시간 배양하고 에탄올 생성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. pH 3.5에서 이론치에 대한 에탄올 수율은 66.93%이었고 pH 7.5에서는 75.92%로 8.99%의 차이를 보였다. pH 5.5(배지 자체의 pH)에서 에탄올 농도는 46.0 g/L, 이론치에 대한 에탄올 수율은 87.96%으로 가장 높게 나타났으므로 배지의 pH는 특별히 조절할 필요가 없었다. 그리고 pH 4.5~6.5 범위에서는 생성 에탄올

농도의 차이가 크지 않은 것으로 보아 이 범위에서 고정화 효모가 안정하다고 사료된다. Williams 등<sup>14)</sup>은 *Saccharomyces cerevisiae*를 alginate에 고정화하였을 때 pH 3.0~7.5 사이에서 안정하여 free cell의 최적 pH 4.5보다 최적 pH의 범위가 넓어졌다고 하였고 Bajpai 등<sup>15)</sup>도 *Kluyveromyces marxianus*의 최적 pH가 5.0인데 비해 alginate에 고정화한 효모는 pH 4~6에서 안정하다고 하였다. 본 결과를 토대로 볼 때 고정화된 효모는 비교적 넓은 범위의 pH에서 안정함을 알 수 있었다.

### 3) 온도

2% sodium alginate에 고정화한 *K. marxianus* F043을 10% sucrose 배지에 접종하고 25~50°C에서 24시간 배양한 후 에탄올 생성량을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 30~45°C에서 이론치에 대한 에탄올 수율은 각각 88.33~85.86%로 거의 유사하게 높게 나타났고 25°C와 50°C에서는 이론치에 대한 에탄올 수율이 41.69, 54.69%로 급격히 감소하였다. 채 등<sup>16)</sup>은 고정화하지 않은 *K. marxianus*의 최적 발효온도가 30°C라고 보고한 결과와 비교하여 볼 때 효모가 고정화되면 최적 온도가 상승하는 것으로 보인다. 이것은 alginate가 열에 대해 안정하기 때문에 포괄된 효모가 배지의 온도에 큰 영향을 받지 않은 것으로 사료되며 Bajpai 등<sup>15)</sup>이 alginate에 *K. marxianus*를 고정화하였을 때 최적 온도가 25~45°C라고 보고한 결과와 유사하다.

### 최적조건에서의 에탄올 발효

본 실험의 결과를 토대로 하여 얻은 최적 조건, 즉 sodium alginate 농도 2%, bead 직경 2 mm, particle input ratio 30:100, sucrose 농도 10%, pH 5.5(배지 자체 pH), 온도 40°C, 100 rpm에서 24시간 진탕배양한 후 에탄올 발효능을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 효모생육에 중요한 pH는 발효 초기(0시간)에 5.53이었으나 24시간 후에는 3.93으로 저하되었고 적정산도(0.1N NaOH ml/100 ml)는 28.5에서 66.7로 산도가 38.2 증가하였다. 24시간 후 잔당은 2.3 g/L로 거의 소비되고 에탄올 농도는 46.4 g/L이었다. 발효 초기에 효모의 생존력은 87.2%이었으나 24시간 후에는 58.7%로 감소하였다.

### 형태학적 관찰

최적조건에서 배양된 alginate bead를 얇게 잘라서 위상차 현미경으로 bead의 단면을 관찰한 결과 alginate bead에서 효모의 분포는 Fig. 3과 같이 나타났다. Bead의 중앙 부근에는 효모의 분포가 적는데 반해 bead의 표면 부근으로 갈수록 효모가 밀집해 자라는 것을 관찰할 수 있다. 이것은 Johansen 등<sup>17)</sup>이 보고한 것과 일치한 형태이다. Fig. 3(B)도 자세히 살펴 보면 bead 표면 부근의 효모가 release 되는 것을 관찰할 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 연구비 지원(KOSEF 921-15 00-007-2)에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

### 참고 문헌

- Klein, J. and B. Kressdorf (1983) Improvement of productivity and efficiency in ethanol production with Ca-alginate immobilized *Zymomonas mobilis*. *Biotechnol. Lett.* **5**, 497-502.
- Godia, F., C. Casas, B. Castellano, and C. Sola (1987) Immobilized cells behaviour of carrageenan entrapped yeast during continuous ethanol fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 342-346.
- Bonilla, A.R. and A.G. Rand (1991) Alginate and carrageenan immobilization effects on *Schizosaccharomyces pombe* activity and stability. *J. Food Sci.* **56**, 1095-1096.
- Toda, K. and M. Shoda (1975) Sucrose inversion by immobilized yeast cells in a complete mixing reactor. *Biotechnol. Bioeng.* **17**, 481-497.
- Peater, S. J. C., G. Christine and C. Jeremt (1985) Isomaltulose production using immobilized cells. *Biotechnol. Bioeng.* **27**, 471-481.
- Tadashi, M., M. Naoki and N. Shigeo (1985) Regeneration of NAD(P)H by immobilized whole cells of *Clostridium butyricum* under hydrogen high pressure. *Biotechnol. Bioeng.* **27**, 1277-1281.
- Dainty, A. L., K. H. Goulding, P. K. Robinson, I. Simpkins, and M. D. Trevan (1986) Stability of alginate-immobilized algal cells. *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 210-216.
- Lee, K.H., J.D. Kim, B.W. Kim, and S.K. Song (1990) Characteristics of glucosidase immobilized on the modified chitin in bioreactors. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **5**, 279-291.
- 홍연, 최언호 (1994) 돼지감자를 이용한 고농도 알코올 발효균주의 탐색. *한국산업미생물학회지*, **22**, 707-712.
- Ryu, B.H. and K.D. Nam (1987) Continuous alcohol fermentation using immobilized growing yeast cells. *Kor. J. Microbiol. Bioeng.* **15**, 248-252.
- Gosmann, B. and H.J. Rehm (1988) Influence of growth behaviour and physiology of alginate-entrapped microorganisms on the oxygen consumption. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**, 554-559.
- Han, M.S., S.D. Ha, and D.H. Chung (1991) Studies on the immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **19**, 390-397.
- 조의철, 김정희, 김영준 (1989) 균체고정화 생물반응기에서 산소공급에 의한 에탄올 생산성 향상. *한국산업미생물학회지* **17**, 165-169.
- Williams, D. and D.M. Munnecke (1981) The production of ethanol by immobilized yeast cells. *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 1813-1825.
- Bajpai, P. and A. Margaritis (1987) The effect of temperature and pH on ethanol production by free and immobilized cells of *Kluyveromyces marxianus* grown on Jerusalem artichoke extract. *Biotechnol. Bioeng.* **30**, 306-313.
- 채은미, 최언호 (1991) 돼지감자 분말을 이용한 *Kluyveromy-*

- ces marxianus*의 알코올 발효. 한국산업미생물학회지 **19**, 265-271.
17. Johansen, A. and J. M. Flink (1986) Influence of alginate

properties and gel reinforcement on fermentation characteristics of immobilized yeast cells. *Enz. Microb. Technol.* **8**, 737-748.

---

**Immobilization of *Kluyveromyces marxianus* F043 for Ethanol Production**

Hee-Suk Lee, Ji-Hyun Shin and Eon-Ho Choi\*(*Department of Food Science, Seoul Woman's University, Seoul 139-744, Korea*)

**Abstract** : This experiment was attempted to improve ethanol productivity by immobilization of *Kluyveromyces marxianus* F043 using Jerusalem artichoke powder. Sucrose medium was used to determine optimum conditions for cell immobilization. The optimum conditions were alginate concentration of 2%, bead size of 2 mm, a particle input ratio of 30 : 100, cultivation period of 24 hours, and substrate concentration of 10%(w/v). The immobilized cells produced the high concentrations of ethanol at pH 4.5~6.5 and 30~45°C, broader ranges of pH and temperatures than those of free cells. Under optimum conditions the immobilized cells showed ethanol concentration of 46.4 g/L and productivity of 1.93 g/L.h. The microphotograph using a two phase contrast microscope showed that immobilized cells cultivated under the optimum conditions were densely populated toward the surface area of beads.

---

\*Corresponding author