

## 연료용 알콜의 고온발효를 위해 분리한 고온성 효모균주 *Saccharomyces cerevisiae* F38-1의 발효특성

김재완 · 김상헌 · 진익렬\*  
경북대학교 자연과학대학 미생물학과

### The Fermentation Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* F38-1, a Thermotolerant Yeast Isolated for Fuel Alcohol Production at Elevated Temperature

Jae-Wan Kim, Sang-Heon Kim and Ingyol Jin\*

Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Kyungpook National University,  
Taegu 702-701, Korea

**Abstract** — The fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* F38-1, a newly isolated thermotolerant yeast strain from a high temperature environment have been studied using a fermentation medium containing 20% glucose, 0.2% yeast extract, 0.2% polypeptone, 0.3%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and 0.2%  $\text{MgSO}_4$  without shaking at 30°C to 43°C for 5 days. The fermentability was over 90% at 30°C, 88% at 37°C, 77% at 40°C and 30% at 43°C. A similar fermentation result was obtained at pH between 4 and 6 at 30°C and 40°C. Aeration stimulated the growth of the strain at the beginning of the fermentation, but it reduced alcohol production at the end of alcohol fermentation. Optimal glucose concentration was determined to be between 18 and 22% at 40°C as well as 30°C, but the growth was inhibited at the glucose concentration of over 30%. A fermentability of over 90% was observed at 40°C in 2 days when the medium was supplemented by 2% yeast extract. A higher inoculum size increased the initial fermentation rate, but not the fermentation. A fermentability of over 90% was achieved in 2 days at 40°C in a fermentor experiment using an optimized medium containing 20% glucose and 1% yeast extract.

연료용 에탄올의 경제적인 생산에 대한 관심이 최근 급격히 높아지고 있다. 그러나 아직은 화석에너지에 비해 값이 비싸다는 이유로 완전한 실용화를 이룩하지 못하고 있으나(2), 경제적인 문제에 우선하는 지구상의 인간의 생존과 지구환경보전을 고려할 때 연료용 알콜의 실용화는 필수적인 대안중 하나로서 지금 세계각국에서 다루어지고 있다.

에탄올 생산에 드는 비용을 절감하기 위해서는 가장 큰 비중을 차지하는 원료구입비용과 생성알콜의 증류비용 및 알콜발효과정중 발효조 내부의 온도를 낮추기 위해 사용하는 냉각수의 사용료 등에 대한 효율적인 대책이 필요하다(3, 6). 이러한 문제점이 해결된다면 대체에너지로서의 알콜의 경제성은 훨씬 높

아질 것이다. 원료물질의 비용을 절감하기 위해 각종 유기폐기물이나 biomass를 적극 이용하려는 시도가 있고(18, 19), 알콜증류의 소요경비를 절감하기 위해 막 방법(7), 균체의 고정화(10, 11) 등을 개발하고 있다. 알콜발효시 적정온도에서 발효를 유지하기 위해 사용하는 냉각수의 소비경비를 절감할 수 있는 고온성 균의 개발은 분리(4, 5), 변이(14), 세포융합(6) 등의 방법으로 여러나라에서 진행되고 있다. 우리나라에서도 하절기 발효조 외부온도는 발효적정 온도보다 훨씬 상회하고 있어 적정온도유지에 소요되는 비용과 발효기질을 살균한 후 적정온도까지 낮추기 위해 소비되는 냉각수 사용비용은 막대하다. 그러므로 고온 알콜발효균의 개발은 이런 문제를 해결할 수 있어 연료용 알콜생산의 중심과제라고 할 수 있다.

우리 연구진은 이미 자연에서 분리동정한, 40°C에서도 알콜생산을 잘 하는 고온성 알콜발효 효모 *Saccharomyces cerevisiae* F38-1(1)를 사용하여 고온발효

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae* F38-1, initial fermentation rate, fermentation medium, fermentor experiment, thermotolerant

\*Corresponding author

적 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

우리 연구진이 대구지역의 고온환경에서 분리한 thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* F38-1(이하 F38-1로 약칭함)을 사용하였다(1). 대조구로서 에너지 자원기술개발지원센터를 통해 분양받은 9개 국내주정회사균들 중 내열성과 내당성이 가장 우수한 B사 균주 *S. cerevisiae* B(이하 B균주로 약칭함)를 사용하였다. 사용배지로서 전배양용은 YPD배지, 알콜발효용은 glucose 20%, yeast extract 0.2%, polypeptone 0.2%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.3%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4$  0.2%로 구성된 발효배지, 균주보관용으로는 PDA배지를 사용하였다(1).

### 전 배양

YPD broth에 한 백금이 접종하여 30°C 항온수조에서 진탕하며 하룻밤 배양한 후 알콜발효의 종균으로 사용하였다.

### 알콜 발효

Flask 배양 수분의 증발을 막기위해 conc- $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 채운 Durham tube가 달린 250 ml flask에 발효배지 50 ml를 넣고 전배양액 5%(V/V)을 접종한 후 30~43°C의 각 항온수조에서 진탕(100 rpm) 또는 정치배양하였다. 발효율은  $\text{CO}_2$  생성에 따른 중량감소로 계산하였다(4).

Fermentor 배양 Jar fermentor(Mituwa KMT-5A, 5L)에서 발효배지 3l에 18시간 배양한 전배양액 5%(V/V)을 접종하여 발효를 수행하였다. 이때 100 rpm으로 교반하였고, 고온발효시 높아진 온도를 내리고 유실되는 알콜량을 줄이기 위해 Jar fermentor 상부에 냉각기 Handy cooler HC-10(Jeio Tech Co., Ltd.)을 연결하여 5~10°C의 냉각수를 순환시켰다. 발효진행 중에는 DO meter와 pH meter를 이용하여 용존산소와 pH변화를 측정하였으며, 따로 pH를 조절하지 않았다. 일정한 시간마다 발효액을 취해 균의 증식 정도와 생성알콜량을 분석하였다.

### 분석 방법

알콜량은 배양액을 1차 증류한 증류액을 alcohol hydrometer로 측정된 값을 Gay Lussac table로 환산하여 계산하였다(12). 그리고, 경시적인 방법으로는  $\text{CO}_2$  생성에 따른 무게 감소로써 발효율을 측정하였다

(4). glucose의 잔당량은 Somogi-Nelson법으로 측정하였다(12). 균의 생육도는 발효액을 취해 Spectrophotometer(Bekman DU-40)를 이용하여 580 nm에서 측정하였다. 또한 배양액을 원심분리한 후 105°C에서 하룻밤 건조 후 계량하여 무게에 따른 cell growth를 측정하였다(4).

## 결과 및 고찰

일반적으로 산업적으로 사용중인 ethanol 생성 효모는 37°C 이상에서는 알콜생성 능력이 현저하게 저하되는 것으로 알려져 있으며, 알콜발효 현상의 가장 시급한 과제로서 이의 해결을 위한 고온성 고알콜생성균주 개발을 위해 많은 노력들이 이뤄지고 있다(4, 5). 그 일환으로서 고온에서도 알콜생성율이 높아서 분리동정한 *S. cerevisiae* F38-1에 대해서 좀더 상세한 고온 알콜발효적인 특성을 알고자 다음과 같은 조사를 하였다. 특히 고온성과 내당성은 이 연구의 초점인데, 실험결과는 기대 이상이었다. 그리고 알콜생산에 있어 yeast extract가 크게 영향을 미쳤는데, 이를 2% 첨가함으로써 발효시간을 단축할 수 있었고 동시에 고발효율로 알콜을 생산할 수 있었다.

### 온도의 영향

*S. cerevisiae* F38-1에 있어서 온도에 의한 발효율을 조사하기 위해 발효배지를 사용하여 30, 37, 40, 43°C의 각 온도에서 5일간 항온수조에서 정치배양하여 발효율을 측정하였다(Table 1).

30°C에서의 발효율은 *S. cerevisiae* F38-1과 대조구

**Table 1. Fermentability of *Saccharomyces cerevisiae* F38-1 at various temperatures**

Strain	Temp (°C)	Final pH	Alcohol (% V/V)	Fermentability (%)
<i>S. cerevisiae</i> F38-1	32	3.53	11.8	94
	37	3.59	11.5	93
	40	3.72	9.8	77
	43	N	3.7	30
<i>S. cerevisiae</i> B	32	3.44	11.2	91
	37	3.32	7.2	74
	40	3.26	6.6	53
	43	N	0	0

Cells were cultured without shaking in the fermentation medium at 30°C to 43°C for 5 days. Initial pH (approximately 5) was not adjusted. N: not determined.

*S. cerevisiae* B균 모두 90% 이상으로 높은 발효율을 나타냈다. Table 1과 같이 F38-1은 대조구 B균에 비해 30°C에서 초기 발효속도가 느리지만 최종발효율은 거의 같았다. 이러한 초기발효속도부진은 F38-1의 전배양액의 접종량을 높힘으로써 극복할 수 있었다 (Fig. 5). 37°C에서 F38-1은 88%의 발효율로써 대조구인 B균의 76%보다 훨씬 우수했다. 40°C에서는 F38-1의 대사속도가 대조구 B균보다 빨라져 초기 발효속도가 빠르게 나타났고, 최종 발효율은 40°C 이하 온도의 자신의 발효율보다는 낮게 나타났으나 76%의 발효율을 나타내어 대조구인 B균의 50% 발효율보다 고온에서 훨씬 우수한 발효율을 가진 균주이었다. 43°C 발효에서도 F38-1은 30%의 발효율을 나타냈는데 비해, 대조구 B균은 알콜생산은 커녕 생육 자체가 위협을 받는 것으로 드러났다. 이로써 F38-1은 국내알콜생성균중 가장 우수한 알콜생성능을 가진 B균보다 고온성 고생산 에탄올 발효효모임을 알 수 있었다.

#### 초기 pH의 영향

F38-1의 초기 pH의 영향을 조사하기 위해 발효배지에 1N-HCl을 이용하여 pH 3~6까지 변화시킨 후 30°C와 40°C의 항온수조에서 5일간 정치배양하였다 (Table 2). F38-1은 30°C와 40°C 모두 초기 pH가 3일 때를 제외하고 발효율에 현저한 영향을 받지 않았고, 최종 pH는 초기 pH보다 조금 낮게 되었다. F38-1은 넓은 범위의 pH에서 안정된 발효율을 나타내었다. 이 결과는 일반적으로 알콜발효에 있어 초기 pH에 대한 영향은 거의 받지않고 넓은 pH에서 안정된 일정한 활성을 나타낸다는 보고(8)와 일치했다.

Table 2. Effect of initial pH on alcohol fermentation at 30°C and 40°C

Temp	Initial pH	Alcohol (% V/V)	Fermentability	Final pH
30°C	3.0	7.6	62	2.8
	4.0	10.7	87	3.1
	5.0	11.2	90	3.7
	5.5	11.2	91	3.6
	6.0	11.1	90	3.6
40°C	3.0	3.7	30	2.5
	4.0	7.6	62	3.0
	5.0	9.4	76	3.3
	5.5	8.8	72	3.4
	6.0	8.6	70	3.5

#### 교반효과

F38-1에 대한 교반효과를 알기 위해 각각 30°C와 40°C 항온수조에서 5일간 정치와 진탕배양(100 rpm)한 후 발효율을 비교하였다(Fig. 1). 30°C 및 40°C 배양에서 F38-1과 대조구 B균 모두 진탕시 초기발효속도는 정치발효보다 증가하지만 최종발효율은 정치배양의 경우보다 저하하였다. 대조구 B균은 30°C에서 F38-1과 거의 같은 초기발효속도를 나타냈으나 특히 40°C의 발효시 최종발효율에 큰 차이가 있었다. 이 결과는 산소 흡수율이 낮으면 알콜생산성이 높고 성장속도는 감소한다는 보고와 일치하고 있다(16).

#### 당 농도의 영향

당 농도는 저농도일 때의 경제성 문제와 고농도시 잔당이 많이 남아 발효폐액의 처리가 문제가 된다(9). 또한 고온발효시 고농도의 기질을 이용하면 생성된 알콜의 저해작용이 상승효과로 나타나 균의 생육에도 영향을 주기 때문에 최적의 당농도를 조사하여야 한다. 그래서 포도당을 10~30%로 변화시킨 발효배지를 이용하여 30°C와 40°C의 항온수조에서 5일간 정치배양하여 당농도에 따른 발효율을 조사하였다 (Table 3). 조사결과 F38-1의 최적 당농도는 30°C와 40°C에서 모두 18~22%임을 알았고, 당농도가 30% 이상에서는 발효와 생육 모두가 저해됨을 알았다. 한편 30°C에서 20% 당농도로 11.3%(V/V) 알콜을 생산했고, 40°C에서 20% 당으로 9.5%(V/V)의 알콜을 생산했는데, 발효 후 잔당의 문제점과 경제성을 고려할 때 F38-1의 알콜발효를 위한 당농도는 18~22%가 적당하다고 결론지을 수 있었다.

#### 유기질소원의 영향

알콜 발효시 발효배지에 vitamin을 첨가함으로써 발효율이 증가했고, 특히 첨가 질소원의 종류에 따라 알콜발효율은 영향을 받으므로(17), 발효배지에 각 질소원을 1% 첨가한 후 30°C와 40°C 항온수조에서 5일간 정치배양하여 이 균의 발효율을 조사하였다 (Fig. 2).

30°C의 경우 yeast extract 1% 또는 yeast extract (0.3%) + polypeptone(0.3%) + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(0.3%) 첨가의 경우 90% 이상의 고발효율을 나타냈다. 40°C의 경우 yeast extract 1% 첨가시 가장 높은 90%의 발효율을 나타냈고, yeast extract 0.3% + polypeptone 0.3% + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3%의 경우 77%의 발효율을 나타냈다. polypeptone의 경우 30°C에서는 약간의 발효력을 보이지만 40°C에서는 발효가 거의 이루어지지 않았다. 또한 무기질소원 첨가시에는 균의 성장은 이루어지나

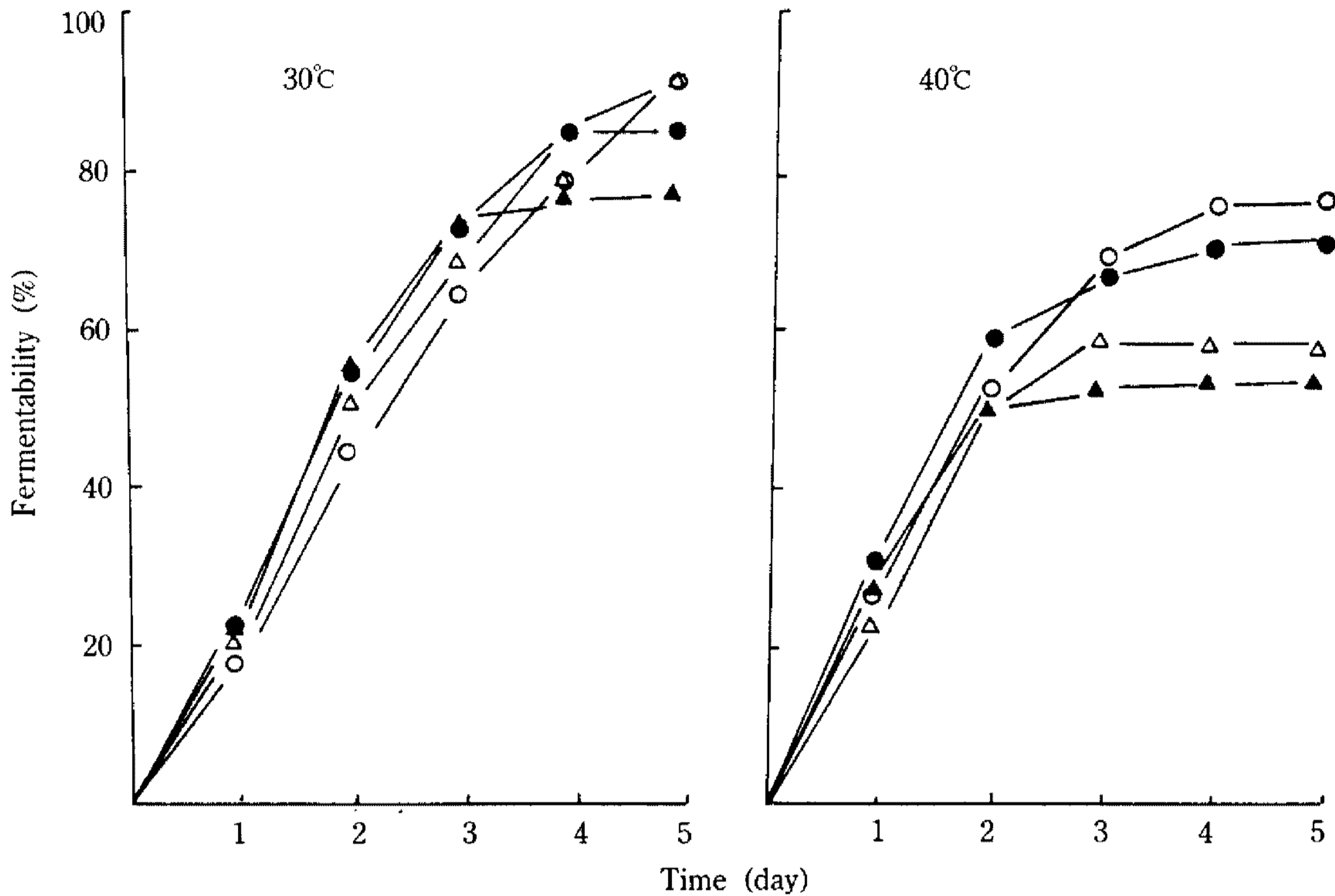


Fig. 1. Effects of agitation on the ethanol fermentation by *S. cerevisiae* F38-1 at 30°C and 40°C. Symbols: ○/●, *S. cerevisiae* F38-1; △/▲, *S. cerevisiae* B; open, standing; closed, agitation (100 rpm)

Table 3. Effects of glucose concentration on ethanol production at 30°C and 40°C

Glucose concentration (%)	Fermentability (%) final			
	Ethanol concentration (% V/V)		Ethanol concentration (% V/V)	
	30°C	40°C	30°C	40°C
10	84	74	4.7	4.5
14	86	80	7.4	6.9
18	89	77	9.7	8.4
20	92	75	11.3	9.5
22	84	65	11.3	8.8
26	70	53	11.2	8.4
30	55	45	10.1	8.3

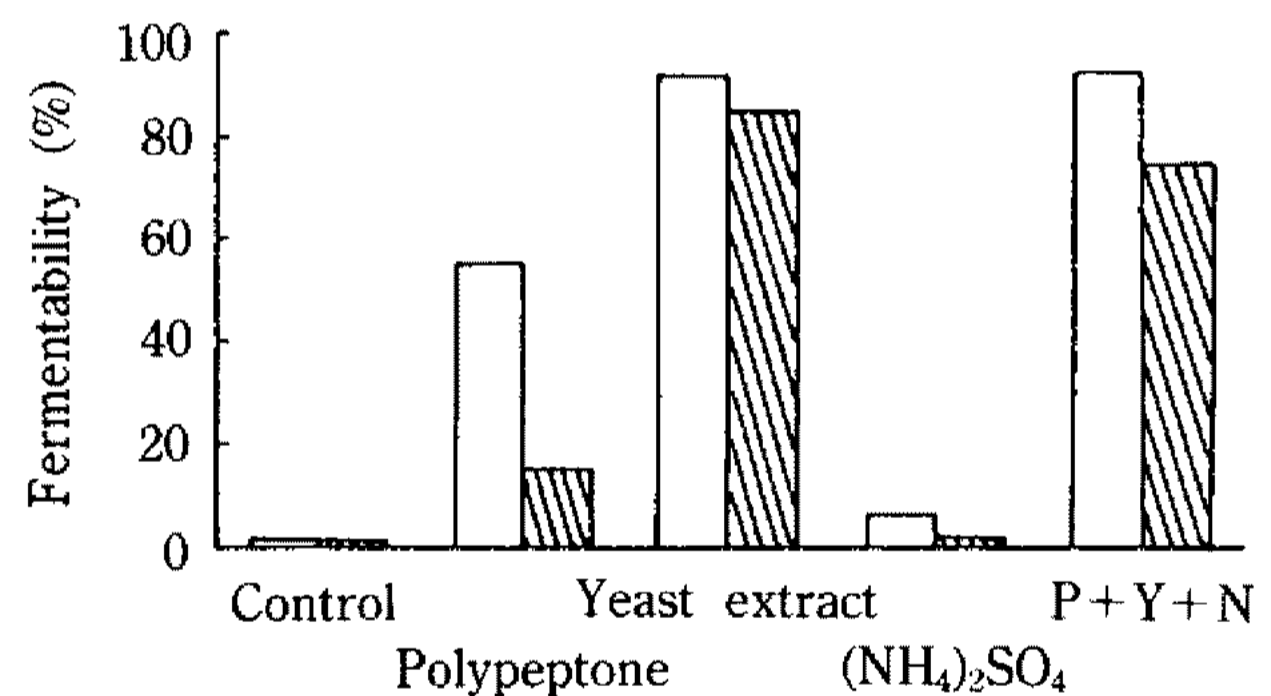


Fig. 2. Effects of nitrogen sources on the ethanol fermentation by *S. cerevisiae* F38-1 at 30°C and 40°C. Cells were cultured without shaking at 30°C and 40°C for 5 days in a fermentation medium containing each nitrogen source of 1% instead of 0.2% yeast extract. P, polypeptone; Y, yeast extract; N, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

발효는 거의 이루어지지 않았다.

**Yeast extract의 영향**

질소원이 미치는 사용균 F38-1의 발효율에 대한 조사결과, 40°C와 같은 고온발효시 yeast extract를 1% 되게 배지에 첨가하면 알콜생성능력을 크게 향상시켰음을 알게 되었다. 그런데 yeast extract를 1.4% 되게 첨가했을 때는 알콜생산의 증가를 가져오며, 부산물의 생성이 감소되며, 그 이상의 농도증가는 생산량을 감소한다는 보고(17)에 따라 이 균의 yeast

extract에 대한 좀 더 자세한 영향을 다음과 같이 조사했다.

우선 배지의 갈변현상을 막기 위해 0~2% yeast extract를 따로 살균한 후, 균 접종시 혼합하여 30°C와 40°C 정치배양하여 발효율을 조사하였다(Fig. 3). F38-1의 경우 30°C와는 달리 40°C에서 yeast extract의 첨가농도가 증가할수록 발효율이 증가하였다. 그리고 yeast extract를 1% 이상 첨가하면 초기 발효속도의 증진효과가 있어 30°C와 40°C 모두 2~3일안에 발효가

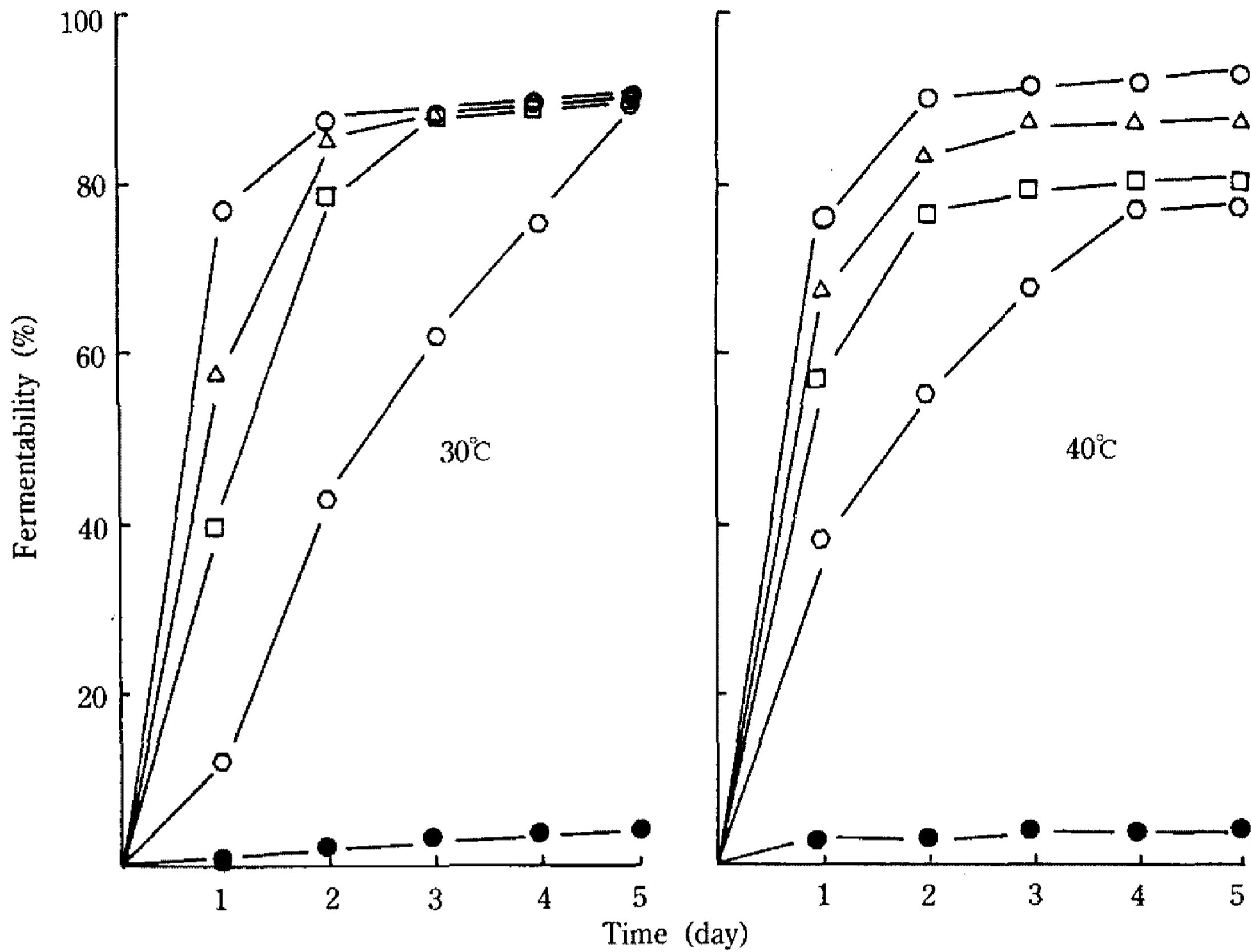


Fig. 3. Effects of yeast extract on the ethanol production by *S. cerevisiae* F38-1 at 30°C and 40°C. Symbols: ●-●, 0%; - , 0.2%; □-□, 0.5%; △-△, 1%; ○-○, 2%

종료되었다. 특히 2% 첨가에 의해 2~3일간의 발효로써 95%의 발효율을 얻었다. 즉 yeast extract의 첨가로 발효율을 높이고, 또한 발효시간을 단축할 수 있었다. 이 결과는 1.4%보다 높은 2% 첨가시에도 발효율의 향상을 나타내어 위의 인용 보고(17)와 다소 달랐다.

**무기염의 영향**

당밀을 기질로 하는 효모의 알콜발효시 적절한 무기염은 균의 성장을 가속화시키고, 알콜생성을 향상시키지만, 부적절한 무기염의 농도는 대사와 균의 성장을 변화시켜 알콜생성의 저하를 야기시킨다는 보고(13)에 따라 이 균주 F38-1의 무기염에 대한 효과를 조사하기 위해 발효배지에 0~2%(W/V) MgSO<sub>4</sub>의 농도를 달리하여 30°C와 40°C에서 발효에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 4). 30°C에서는 크게 영향을 미치지 않았으나 40°C에선 약간의 발효율의 증가를 가져왔는데, 0.2% MgSO<sub>4</sub>의 수준으로도 충분한 발효효과를 볼 수 있었다.

**Seed volume의 영향**

접종 조건에 따라 알콜 생성과 생육도가 영향을 받는다. 즉 접종량이 많으면 발효시간이 짧아지고 bio-

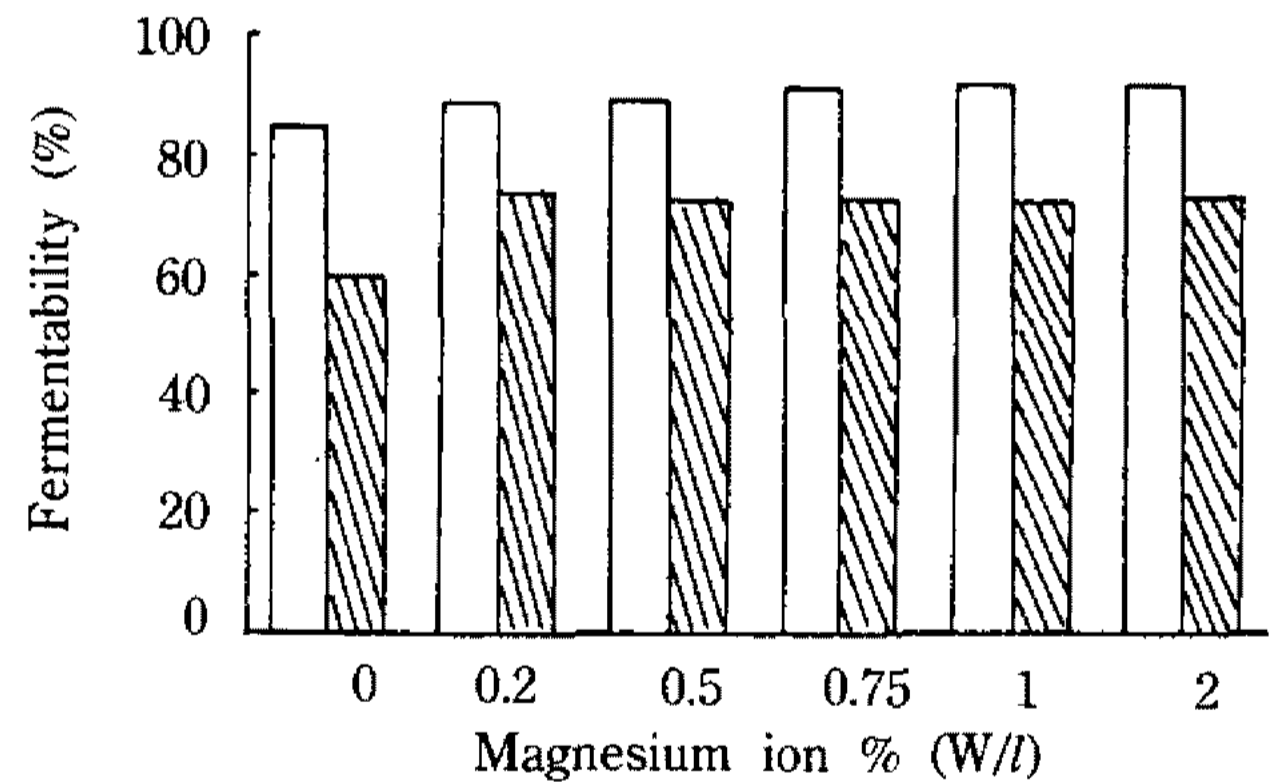


Fig. 4. Effects of magnesium ion on the ethanol production by *S. cerevisiae* F38-1 at 30°C and 40°C. Symbols: □, 30°C; ▨, 40°C

mass는 감소하지만 알콜의 생성은 일정하게 유지되는데, 발효기간을 줄이고 오염을 방지하기 위해 현재 공장수준에서는 10%(V/V)을 사용하고 있다(12, 15).

F38-1의 접종량에 따른 발효율과 생육도를 조사하기 위해 2, 5, 10, 20, 30%의 전배양액을 접종하여 30°C와 40°C의 항온수조에서 5일간 배양하였다(Fig. 5). 그 결과 전배양액의 접종량이 증가할수록 균의 발효속도는 증가하지만 최종발효율은 일정하게 유지되었으며, 특히 초기발효속도의 부진(Table 1)은 접종량의 증가로써 극복할 수 있었는데, 이 결과는 위의 인용

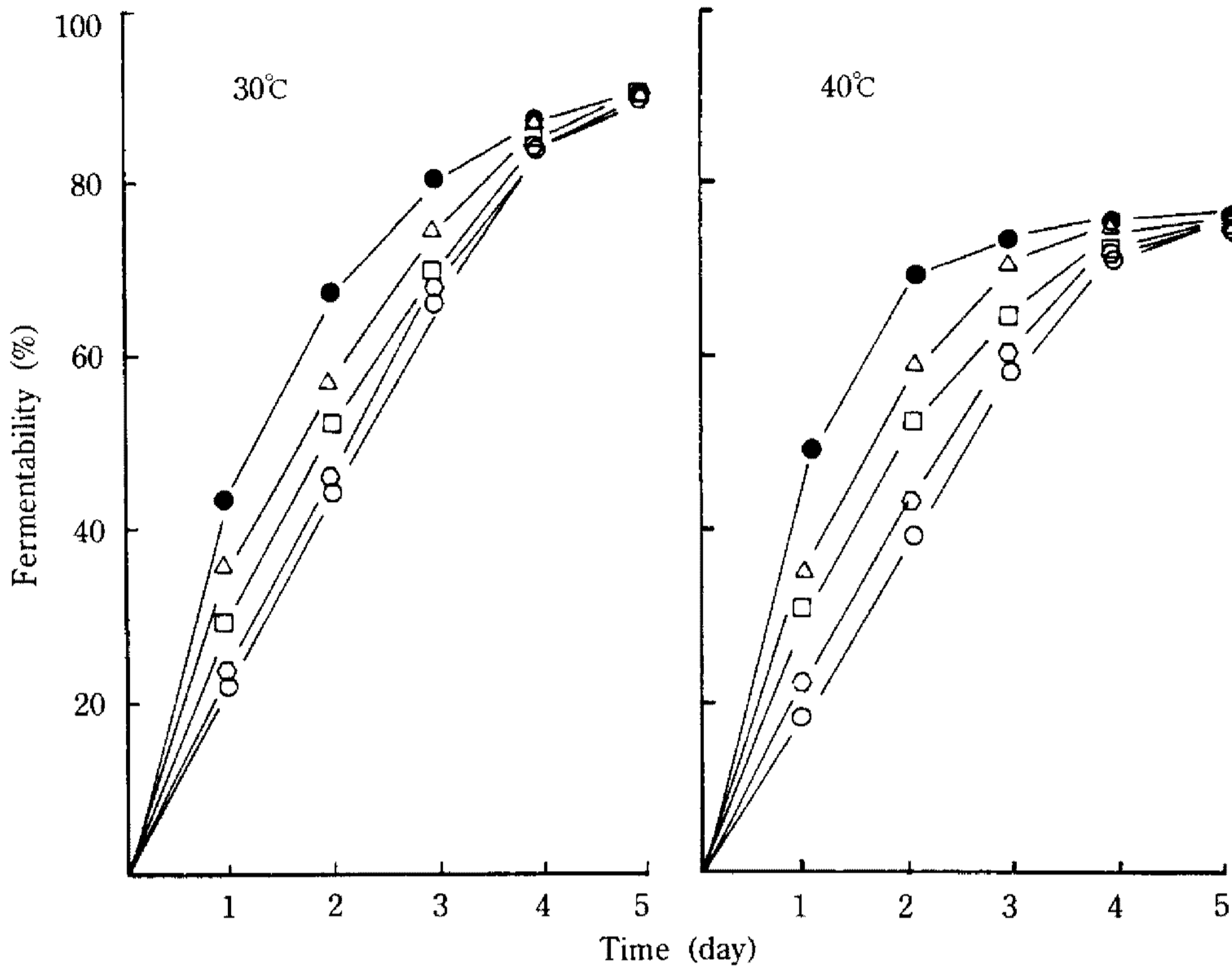


Fig. 5. Effects of the inoculum size on ethanol fermentation by *S. cerevisiae* F38-1 at 30°C and 40°C. Symbols: ●-●, 1%; - , 5%; □-□, 10%; △-△, 20%; ○-○, 30%

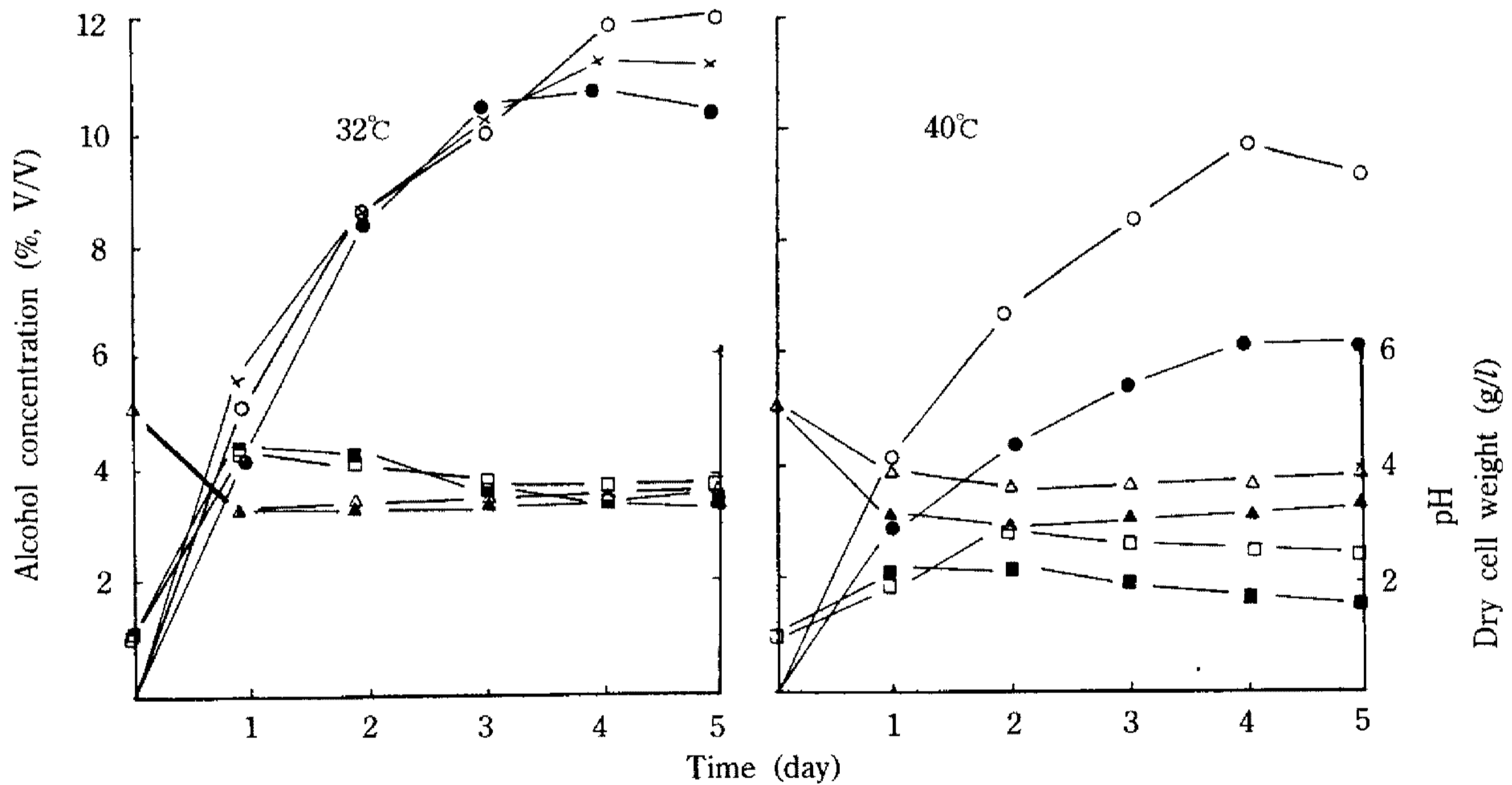


Fig. 6. Ethanol fermentability of *S. cerevisiae* F38-1 in a jar fermentor at 32, 37 and 40°C. Symbols: open *S. cerevisiae* F38-1; closed *S. cerevisiae* B. ○-○, alcohol productivity (% V/V); □-□, dry cell weight (g/l); △-△, pH; X-X, F38-1 at 37°C.

보고(12, 15)와 일치했다.

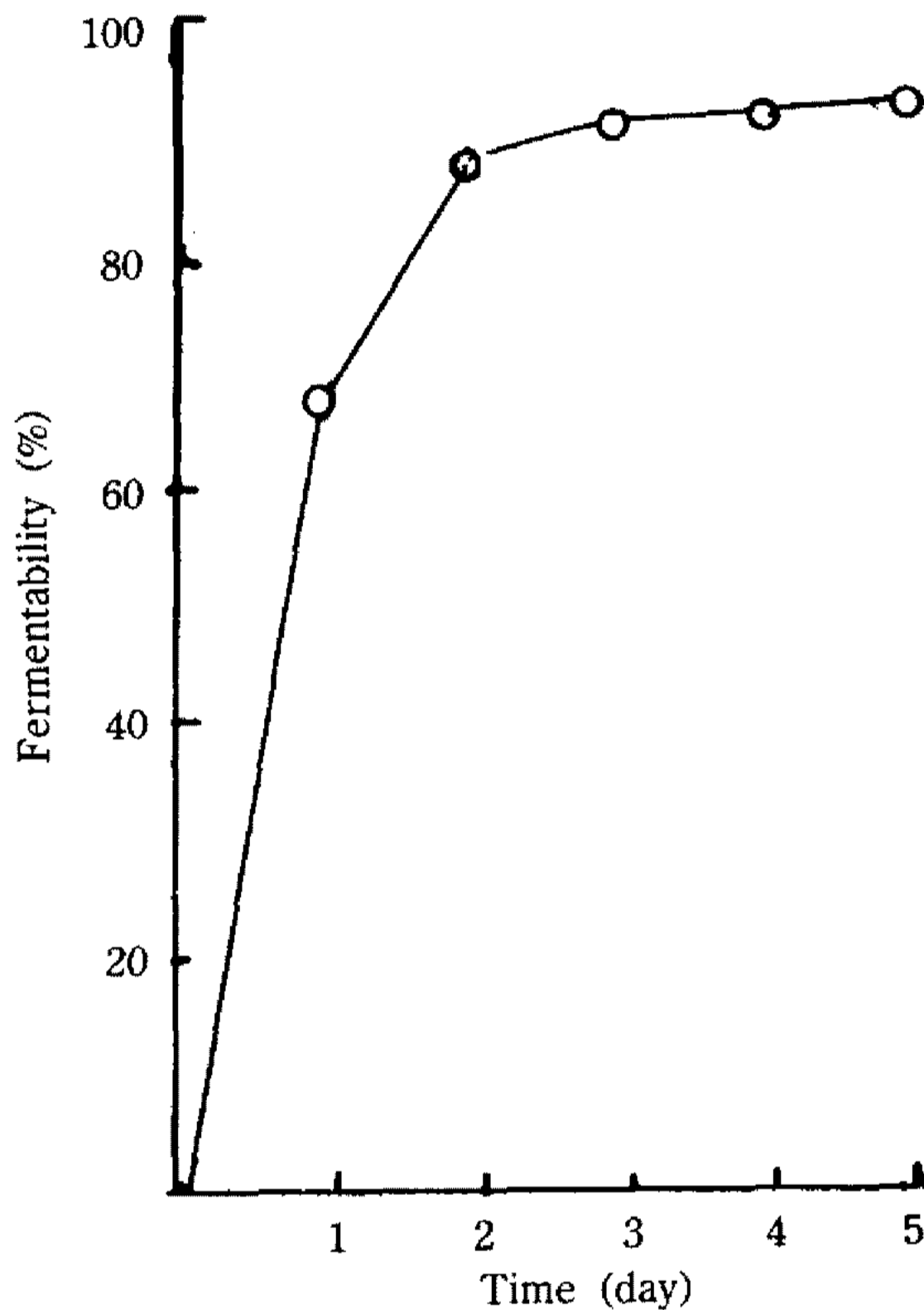
Jar Fermentor 규모의 발효

Jar fermentor를 이용하여 F38-1 균주에 대한 공

업적 이용가능성을 검토하고자 하였다. 5l Jar fermentor에 3l의 발효배지를 넣어 살균하여 30°C에서 전배양한 균 5%(V/V)를 접종하여 30°C와 40°C에서의 발효율을 조사하였다(Fig. 6). 30°C에서 F38-1은

**Table 4. Optimal conditions for higher alcohol production**

Ingradiant	Composition (%)
glucose	18~22
yeast extract	1~2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.2
inoculum of preculture broth	5

**Fig. 7. Ethanol production of *S. cerevisiae* F38-1 at optimum conditions.**

Cells were cultured in a jar fermentor at 40°C under the optimal composition of the fermentation medium of 20% glucose, 1% yeast extract, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and 0.2% MgSO<sub>4</sub> with an inoculum size of 5%.

11.8%, 대조구 B균은 11.3%(V/V), 그리고 37°C에서도 F38-1은 11.8%의 알코올을 생성하는 고도의 알코올발효 수행 균주임을 알 수 있었다. F38-1 및 대조구 모두 발효가 진행됨에 따라 초기엔 pH의 저하가 일어났으나 곧 일정한 pH를 안정하게 유지하며 알코올을 생성했다. 40°C에서 발효를 수행하였을 경우 대조구 B균은 6.6%(V/V)의 알코올을 생성하는 반면, F38-1균주는 9.8%(V/V)의 알코올을 생성함으로써 80%의 발효율을 나타내어 고온에서도 높은 발효력을 가진 thermo-stable yeast이었다.

### 고온발효의 최적 조건

지금까지의 연구결과로 얻은 발효에 미치는 각각의 인자를 종합하여 F38-1을 고온환경에서 발효시킬 때 에탄올을 경제적으로 생성할 수 있는 최고조건은 Table 4와 같았다. glucose 20%, yeast extract 1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 0.2%로 조성한 배지 3l를 5l Jar fermentor를 사용하여 40°C에서 발효를 수행했을 때 2일간 발효로써 11.3%(v/v) 알코올을 90% 이상의 고발효율로 얻을 수 있었다(Fig. 7). 이 결과로써 현재까지 보고된 다른 균주들의 경우와 비교해봐도 공업적으로 활용가능성이 충분하다고 여겨진다.

### 요 약

*Saccharomyces cerevisiae* F38-1의 알코올생성 특성과 최적조건을 조사하여 공업적인 이용가능성을 검토하였다. 20% glucose, 0.2% yeast extract, 0.2% polypeptone, 0.3% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2% MgSO<sub>4</sub> 구성의 발효배지를 사용하여 30~43°C의 온도에서 5일간 정치배양한 결과, 30°C에서 90% 이상, 37°C에서는 88%의 높은 발효율을 보였는데, 40°C의 고온에서도 77%의 높은 발효율을 나타냈으며, 43°C에서도 30%의 발효율을 나타냈다.

초기 pH에 대한 영향의 조사결과, 30°C와 40°C에서 pH 4~6에서 안정한 활성을 나타내었다. 그리고 30°C와 40°C 발효에서 교반에 의해 균의 생육은 촉진되지만 최종발효율은 정치배양보다 낮았다. 또한 30°C와 40°C에서 18~22%의 당농도의 배지로 발효시 최대 발효율을 보였고, 30% 이상의 당농도에서는 발효와 생육 모두 저해되었다.

질소원으로서 yeast extract만을 2% 되게 첨가함에 따라, 40°C에서도 30°C에서와 같은 90% 이상의 발효율을 나타냈으며 발효시간도 대폭 단축시킬 수 있었다. 그러나 polypeptone의 첨가는 발효율의 증가를 볼 수 없었다. 또한 무기염으로서 MgSO<sub>4</sub>를 0.2% 첨가하면 약간의 발효율의 증가는 일어났으나 큰 영향은 없었다. 이 균은 30°C에서 초기발효율이 대조구에 비해 떨어졌으나 전배양액을 5% 접종으로써 초기발효속도의 저하를 극복할 수 있었는데, 이러한 접종량의 증가로써 초기발효속도는 증가했지만 최종발효율에는 변화가 없었다. 한편 발효배지 3l에 이 균의 전배양액을 5% 되게 접종한 40°C의 5l jar fermentor 발효에서 9.8%(V/V)의 알코올을 발효하여 우수한 발효율을 보임으로써 scale up 발효에 대해서도 안정함을 보였다.

이 균주 F38-1을 최적발효조건(glucose 20%, yeast

extract 1%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4$  0.2%)에서 5l jar fermentor를 사용하여 40°C에서 발효를 수행했을 때, 2일간의 발효로써 90% 이상의 발효율을 보이며 11.3%(V/V)의 알콜을 안정하게 생성했다. 이상의 결과로써 이 균주는 고온성, 내당성, 내알콜성, 고생산성 에탄올발효 효모균주임을 확인할 수 있었다.

### 감사의 말씀

이 연구는 통상산업부 에너지자원기술개발지원센터의 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Kim, J.W., I.N. Jin and J.H. Seu. 1995. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* 38-1, a thermotolerant yeast for fuel alcohol production at high temperature. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 499-505.
- 최낙성. 1995. Pilot plant를 이용한 연료용 알콜 생산기술 개발. *생물화공* **9**(2): 3-19.
- Limtong, S., M. Nakata, H. Funahashi, T. Yoshida, T. Seki, J. Kumnuanta and H. Taguchi. 1984. Continuous ethanol production by a concentrated culture of flocculation yeast. *Annual Reports ICME.* **7**: 15-26.
- Fujio, Y. and P. Atthasampunna. 1981. Isolation and application of thermophilic microorganisms for alcohol fermentation. *Annual Reports ICME.* **4**: 382-384.
- Hacking, A.J., I.W.F. Taylor and C.M. Hanas. 1984. Selection of yeast able to produce ethanol from glucose at 40°C. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**: 361-363.
- Lee, J.D. and H.S. Lim. 1988. Protoplast fusion between *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida cariosilignicola*. *Kor. J. Microbiol.* **26**: 37-43.
- Kim, T.S., S.H. Lee, S.M. Son, Y.J. Kwon and Y.R. Pyun. 1991. Continuous ethanol fermentation using membrane cell recycle fermentor. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**: 419-427.
- Bajpai, P.K. and A. Margaritis. 1986. Effect of temperature and pH on immobilized *Zymomonas mobilis* for continuous production of ethanol. *Biotech. Bioeng.* **28**: 824-828.
- Jones A.M. and W.M. Ingledew. 1994. Fuel alcohol production: optimization of temperature for efficient very-high-gravity fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 1048-1051.
- Luong, J.H.T. and M.C. Tseng. 1984. Process and technoeconomics of ethanol production by immobilized cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**: 207-216.
- Nagashima, M., M. Azuma, S. Noguchi, K. Inuzuka and H. Samejima. 1984. Continuous ethanol fermentation using immobilized yeast cells. *Biotech. Bioeng.* **26**: 992-997.
- Seu, J.H. and Y.H. Kim. 1989. Ethanol fermentation of fusion between heterologous transformant of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis* in mini-jar. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17**: 8-13.
- Park, Y.M., C.H. Kim and S.K. Rhee. 1992. Kinetics of strictly anaerobic ethanol fermentation from starch by *Clostridium thermohydrosulfuricum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2**: 288-282.
- Guiraud, J.P., J. Bourgi, M. Stervinou, M. Claisse and P. Galzy. 1987. Isolation of a respiratory-deficient *Kluyveromyces fragilis* mutant for the production of ethanol from *Jerusalem artichoke*. *Biotech. Bioeng.* **24**: 850-858.
- Vega, J.L., A.R. Navarro, E.C. Clausen and J.L. Gaddy. 1987. Effect of inoculum size on ethanol inhibition modeling and other fermentation parameters. *Biotech. Bioeng.* **24**: 633-638.
- Ligthelm, M.E., B.A. Prior and J.C.D. Preez. 1988. The oxygen requirements of yeasts for the fermentation of D-xylose and D-glucose to ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 63-68.
- Sato, K., S. Goto, S. Yonemura, K. Sekine, E. Okuma, Y. Takagi, K. Hon-Nami and T. Saiki. 1992. Effect of yeast extract and vitamin B<sub>12</sub> on ethanol production from cellulose by *Clostridium thermocellum* 1-1-B. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 734-736.
- Wood, B.E. and L.O. Ingram. 1992. Ethanol production from cellobiose, amorphous cellulose and crystalline cellulose by recombinant *Klebsiella oxytoca* containing chromosomally integrated *Zymomonas mobilis* genes for ethanol production and plasmids expressing thermostable cellulase gene from *Clostridium thermocellum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 2103-2110.
- Burchhardt, G. and L.O. Ingram. 1992. Conversion of xylan to ethanol by ethanologenic strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 1128-1133.

(Received 20 July 1995)