

에리스리톨 생산 균주인 *Moniliella suaveolens* var. *nigra*를 이용한 배지 및 발효조건의 최적화

최 병 옥 · 박 흥 우

한양대학교 화학공학과

(접수 : 1999. 10. 1., 게재승인 : 1999. 10. 23.)

Optimization of the Medium and Fermentation Conditions with Erythritol Producing *Moniliella suaveolens* var. *nigra*

Byungwook Choi and Hongwoo Park†

Department of Chemical Engineering, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received : 1999. 10. 1., Accepted : 1999. 10. 23.)

Optimization of the medium and fermentation conditions for erythritol production has been studied. We have found that the optimal carbon source was glucose at the concentration of 400 g/L. The optimal temperature was 30°C with excessive aeration. Improved erythritol productivity was achieved by reducing the yeast extract from 5 g/L to 3 g/L while adding 2.7 g/L urea, 1.79g/L K_2HPO_4 , and 0.18g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. The erythritol productivity increased from 0.747 g/L/h to 1.071 g/L/h and the yield increased from 31.4% to 45.2%. The byproduct glycerol was reduced from 96.6g/L to 45.7g/L as well. We have performed 5L fermentation with and without the pH control. The erythritol productivity with the pH control was about 30% lower than that without pH control. Excessive foaming of 5L fermentation has been observed during fermentation.

Key Words : erythritol, sweetener, medium optimization, fermentation, glycerol

서 론

설탕은 칼로리가 높고 충치를 유발하기 때문에 설탕을 대체할 수 있는 감미료에 대한 요구가 증가하고 있다. 이러한 대체 감미료로는 sorbitol, mannitol, xylitol, erythritol, maltitol, lactitol과 같은 당알코올류를 들 수 있다. 이 중에서 erythritol은 감미도가 설탕의 80% 정도이며 칼로리량이 설탕의 10% 미만이고 또 충치를 유발하지 않고 입에서 녹을 때 청량감을 주며 가공성이 우수하다. Erythritol은 다른 당알코올과 달리 배탈과 같은 부작용이 없다(1-7). Erythritol은 고감도 감미료인 아스파탐이나 스테비아와 적당한 비율로 혼합할 경우 설탕의 맛과 유사한 감미도와 함께 저칼로리, 비중치성의 감미료를 만들 수 있다(8).

Erythritol은 화학합성법 대신 미생물에 의해 주로 생산되며 주요 에리스리톨 생산 미생물 및 수율을 Table 1에 나타냈다. Erythritol의 산업화 공정은 1990년에 일본 일연화학에서 미생물 발효에 의한 erythritol 생산공정 개발이 이루어졌으며(8) 또 미국

의 Cargill사에서 97년부터 실용화하고 있다. Erythritol의 생산공정은 기질과 균주를 배양기에 함께 주입하여 1-2주일 동안 배양시키는 회분식 공정이다. 이 방법은 배양기의 부피가 크며 생산비용도 높기 때문에 이러한 단점을 극복하기 위하여 연속배양공정도 개발 중에 있다(9).

본 연구실에서 94년 *Moniliella suaveolens* var. *nigra*를 별집에서 screening하였으며 그 생산성은 0.7 g/L/h이다. 이는 현재 다른 미생물을 이용한 에리스리톨 발효 생산성인 1.5~2.0 g/L/h에 미치지 못하며 부산물인 글리세롤이 25%의 수율로 생산된다는 단점이 있다. 또 사용하고 있는 배지의 성분에 yeast extract 5 g/L가 들어가는데 이는 배지가격의 20%를 차지한다. 미생물 발효를 통해 erythritol을 경제적으로 대량 생산하기 위해서는 erythritol

Table 1. Various microorganisms for erythritol production.

Microorganism	Substrate	Yield (%)	Reference
<i>Trichosporonoides</i> sp.	Sucrose, glucose	43.0	Marina(9)
<i>Torula</i>	Sucrose	40.0	Hajny(10)
<i>Candida zeylanoides</i>	n-alkane	55.0	Hattori(11,12)
<i>Aureovasidium</i> sp.	Glucose	51.0	Wako(13-15)
<i>Aureovasidium</i> sp. SN-124A	Glucose	47.6	Sasaki(6,16)
<i>Moniliella pollinis</i>	Glucose	50.0	Roper(2)

† Corresponding Author : Dept. of Chemical Engineering, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

Tel : 02-2290-0487, FAX : 02-2299-9496

E-mail : hhwwp@chollian.net

수율과 생산성을 증가시켜야 한다.

본 연구에서는 높은 에리트리톨의 수율과 생산성을 얻으며 부산물인 글리세롤을 최소화하는 배양조성과 배양조건을 조사하였다. 기본 배양조건을 구하기 위해 먼저 탄소원을 선정하여 탄소원의 알맞은 농도를 결정한 다음 발효공정의 중요한 인자인 온도 및 산소 공급에 대한 조건을 구했다. 배지 최적화를 위해서는 yeast extract의 사용을 줄이기 위한 실험을 했다. 최적화된 배지를 이용하여 5L 발효기에서 재현 실험을 했고 아울러 pH를 조절해 주며 비교 실험을 했다.

실험 재료 및 방법

균주 및 배지 조성

Erythritol 발효를 위한 균주는 본 연구실에서 벌집으로부터 4000여 개의 균주 스크리닝 과정을 통해 분리한 *Moniliella suaveolens* var. *nigra*이다(17). 이 균주는 고삼투압 환경에서 자라고 pseudohyphae와 urease를 생성하고 디아조늄 B 블루 염색에 양성반응을 보이며 nitrate를 이용할 수 있고 37°C에서는 자라지 않으며 포도당과 설탕을 발효물질로 이용하고 포도당, galactose, sucrose, maltose, ribose, glycerol, erythritol, mannitol에 동화성이 있다고 균주동정 결과 밝혀졌다. 균주는 stock slant 배지에서 냉장보관하였고 활성을 유지하기 위해 2주일에 한 번씩 계대배양을 하였으며 오랜 기간 보관하기 위해 동결건조기(Advantec, VF-35)로 동결건조하여 밀봉된 상태로 -70°C냉장고(Forma Scientific)에 보관하였다.

균주를 저장하기 위한 stock slant 배지 및 종배양을 위한 배지는 포도당 200 g/L, yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L를 이용하였고, erythritol 생산배지는 포도당 및 설탕 200~500 g/L, yeast extract 1~5 g/L, urea 1.00~7.86 g/L, K₂HPO₄ 0.00~1.79 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.00~1.41 g/L, MgCl₂·6H₂O 0.00~0.29 g/L를 이용하였다.

배양 조건

Erythritol 생산을 위한 종배양은 slant로부터 균주 1 백곡이를 취하여 액체 배지 30 mL가 들어 있는 300 mL 진탕 플라스크에 접종하여 진탕배양기(비전과학)에서 180 rpm에서 2일간 배양하였다. 본배양은 erythritol 생산을 위한 종배양용 액체 배지가 30 mL가 들어 있는 300 mL 진탕 플라스크에 종배양액의 OD가 15일 때, 즉 건조균체농도가 10 g/L일 때 1 mL를 접종하여 진탕배양기에서 180 rpm으로 7일간 배양하였다.

발효기 배양은 5 L 발효기(한국발효기, KF-5 L)를 사용하였으며 배양조건은 30°C, 1200 rpm, air flow rate 1 vvm (volume/volume/minute)이며 7일 동안 배양하였고 거품의 발생을 억제하기 위해 소포제인 neorin을 첨가하였다. 또 pH를 조절해 주는 경우와 조절해 주지 않는 경우 5N NaOH를 사용하였다.

균체농도 분석

일정시간마다 채취한 배양액을 원심분리하고 물로 세척한 후 젖은 상태의 세척된 세포를 80°C에서 24시간 동안 건조시켜 건조균체질량을 구하였고, 이 때 배양액을 적당한 배율로 희석하여 분광광도계(Milton roy, spectronic 20D)로 562nm에서 OD를 측정하였다. 이렇게 건조균체질량과 OD를 구하여 이 두 가지에 대해

그래프를 그려 건조균체질량(g/L)=0.668×OD at 562 nm라는 일차식을 얻었다. 이 식을 이용하여 OD를 측정하여 건조균체의 농도를 구하였다.

당분석

포도당, erythritol, glycerol 등을 HPLC(Waters)로 분석하였다. 배양액은 3mL 취하여 10,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 filter(Millipore, millex HV 0.45 μm)로 여과시킨 후 사용하였다. 컬럼은 Aminex HPX-87H column(Bio-rad)이며 pre-column은 Cation H Guard cartridge(Bio-rad)를 사용하였고 검출기는 Differential Refractometer (Waters, M410)를 사용하였다. 머무름 시간은 20분, 주입 부피는 2 μL, 검출기의 sensitivity는 16으로 조정하였다. 이동상으로 0.01N H₂SO₄를 사용하였고 유속은 0.6 mL/min으로 하였다. 컬럼의 온도는 40°C, 검출기의 온도는 30°C로 유지하였다.

결과 및 고찰

기본 배양조건 조사

기본 배양조건을 구하기 위한 실험은 최적의 탄소원과 그 양을 구하는 실험, 최적의 배양온도와 산소공급에 대한 실험으로 이루어졌으며 flask culture를 이용했다. 본 연구에 사용한 균주를 동정한 결과에 의하면 이 균주는 포도당과 설탕 두 가지만을 발효물질로 이용한다고 밝혀졌기 때문에 이 두 탄소원에 대해서 비교 실험을 하였다. 배양은 포도당 및 설탕 400 g/L, yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L의 배지에서 30°C로 7일에 걸쳐 이루어졌다. 탄소원으로 포도당을 사용한 실험에서는 세포가 잘 자랐으며 공급된 포도당도 모두 소비되었으며 erythritol은 125.5 g/L가 생성되었고 부산물인 glycerol은 96.6 g/L가 생성되었다. 반면에 탄소원으로 설탕을 사용한 실험에서는 세포가 거의 자라지 않았고 설탕은 전혀 소비되지 않았으며 erythritol과 glycerol도 생성되지 않았다. 따라서 400 g/L의 고농도 설탕에서는 균주가 제대로 증식할 수 없음을 알 수 있었다. 이 실험 결과로부터 탄소원으로 포도당을 선정하였다.

선정된 포도당의 최적농도를 선택하기 위해 200, 300, 400, 500 g/L일 때 30°C에서 각각에 대해 배양을 실시하였다. 배양에는 yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L가 포함되며 배양은 포도당이 모두 소비될 때까지 이루어졌다. 포도당이 모두 소비되기 위해 소요되는 시간은 포도당 농도가 높을수록 길어졌는데 이는 포도당 농도가 높을수록 기질저해가 생겨서 균주가 자라기 어려워지기 때문이다. Erythritol 생산성은 포도당 농도가 400 g/L일 때 다른 농도보다 다소 높게 나타났기 때문에 앞으로의 실험에서는 포도당 농도 400 g/L에서 실험을 하였다.

Erythritol 생산성에 대한 최적온도를 구하기 위해 먼저 20, 30, 40°C에서 실험을 했고 이 실험 결과를 바탕으로 28, 30, 32°C에서 다시 실험을 하였다. 배양은 포도당 400 g/L, yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L의 배지에서 7일에 걸쳐 이루어졌으며 또 실험 결과는 Table 2에 나타났다. 배양온도 20, 30, 40°C에서 비교 실험을 한 결과 20°C에서는 erythritol이 조금밖에 생성되지 않았고 40°C에서는 erythritol이 거의 생성되지 않았다. 다시 28, 30, 32°C에서 비교 실험을 한 결과 28°C에서는 포도당이 남았으며 생성되는 erythritol도 적었고 32°C에서는 erythritol이 30°C에서와 거의 비

Table 2. Effects of temperature and aeration on erythritol production.

		vol.(mL)	cell conc.(g/L)	final pH	glucose conc.(g/L)	erythritol conc.(g/L)	glycerol conc.(g/L)	erythritol yield(%)
temp	20°C	30			200.0	60.4	72.9	30.2
	28°C	30			52.9	70.1	91.4	20.2
	30°C	30			0.0	125.5	96.6	31.4
	32°C	30			3.3	124.9	111.7	31.5
	40°C	30			350.0	4.7	4.8	9.4
aeration	aerobic	30	36.6	3.2	0.0	125.5	96.6	31.4
	aerobic	60	8.4	3.8	134.8	56.6	48.8	21.3
	aerobic	90	6.9	4.0	178.3	40.8	43.6	18.4
	anaerobic after one day	30	18.4	3.5	156.0	33.7	65.1	13.8
	anaerobic after three days	30	27.9	3.2	21.2	109.4	101.1	28.9

숫하게 나왔지만 부산물인 glycerol이 많이 생겼다. 위의 실험 결과로부터 최적온도는 30°C임을 알 수 있었다.

산소 공급이 세포 성장과 erythritol 생산성에 미치는 영향을 알아보기 위해 배양액의 부피를 30, 60, 90 mL로 높여 산소 공급이 줄어들게 하는 방법과 배양 초기에는 호기성 발효를 하다가 세포가 어느 정도 성장이 되면 각각 2일째와 4일째부터 플라스크에 파라핀을 씌워 혐기성 조건으로 만들어 주는 방법으로 실험을 하였다. 배양은 포도당 400 g/L, yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L의 배지에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. 실험 결과는 Table 2에 나타났다. 실험 결과 배지의 부피를 증가시킬수록 또한 배양 후반에 혐기성 발효 시간을 길게 할수록 세포의 성장도 감소하고 erythritol 생산도 적어지는 것으로 나타났다. 두 실험으로부터 플라스크 배양의 경우 배양 초기부터 배양이 끝날 때까지 산소가 과잉으로 공급되어야 세포 성장과 erythritol 생산성이 증가함을 알 수 있었다.

배지 최적화

기존 배지는 가격이 비싼 yeast extract를 5 g/L 포함하고 부산물인 glycerol도 많이 생성시키기 때문에, yeast extract의 사용을 줄이면서 erythritol 수율은 높이고 glycerol 수율은 낮추기 위한 배지 최적화가 필요하다. 이 배지 최적화 실험들은 flask culture로 실험되었다. Yeast extract를 5 g/L에서 3 g/L, 1 g/L로 줄이는 대신 부족해지는 질소, 인, 황, 마그네슘을 urea, K₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O로 대체하며 그 양을 각각 2배, 4배, 8배로 과량 넣어 주어 실험을 하였고 그 결과는 Table 3에 나타났다. Yeast extract를 3 g/L로 줄이는 대신 부족한 성분을 4배로 과량 첨가해 주었을 때 생성된 erythritol은 151.1 g/L로 기존 배지에서보다 증가하였으며 생성된 glycerol은 59.3 g/L로 감소하여 가장 우수한 결과를 나타냈다. Yeast extract를 3 g/L로 줄이는 대신 부족해지는 성분을 8배로 과량 첨가해 준 배지에서는 glycerol의 생성이 기존 배지에 비해 감소하였지만 erythritol의 생성도 역시 감소하였다. Yeast extract를 1 g/L로 줄이는 대신 부족해지는 성분을 2배, 4배, 8배로 과량 첨가해 준 배지에서는 대체적으로 세포가 잘 자라지 않았고 erythritol도 적게 생성되었다.

앞의 yeast extract를 줄이는 대신 다른 성분을 첨가해 주는 실험에서 배지 조성이 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L, K₂HPO₄ 0.45 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.35 g/L일 때 erythritol 생산성이 가장 좋았지만 이 배지 조성은 각 성분들을 함께 증가시킨 값이기 때문에 각 성분들에 대해서 erythritol 생산

성에 미치는 영향을 알아보기 위해 각 성분을 순차적으로 바꾸며 에리스리톨 생산성을 알아보았다. 이 실험결과는 Table 4에 나타났다. 먼저 urea의 영향을 알아보기 위해 다른 배지 성분을 일정하게 유지시키며 urea의 농도를 1.86 g/L, 2.72 g/L, 4.43 g/L로 바꾸어 주며 실험을 하였다. 배양은 30°C에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. 실험 결과 urea의 농도가 2.7 g/L 이상에서 세포농도가 증가하였고 생성되는 erythritol도 증가하였으며 부산물인 glycerol은 감소하였다.

MgSO₄의 영향을 알아보기 위해 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L, K₂HPO₄ 0.45 g/L로 고정시키고 MgSO₄·7H₂O의 농도를 0.00 g/L에서 0.70 g/L까지 바꾸어 주며 실험을 하였다. 배양은 30°C에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. 실험 결과는 MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.18g/L까지는 농도가 높아질수록 erythritol 생산량이 증가하였지만 MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.18 g/L보다 더 높아지면 erythritol의 생산량이 오히려 감소하였다. 이 실험 결과로부터 배지 중 MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.18g/L에서 erythritol 생산성과 수율이 가장 좋음을 알 수 있다.

MgSO₄에서 마그네슘과 황 중에서 어떤 원소가 erythritol 생산성과 수율에 영향을 미치는가를 알아보기 위해 MgSO₄·7H₂O에 들어 있는 마그네슘과 황의 양과 같은 양이 들어가도록 MgCl₂·6H₂O와 (NH₄)₂SO₄를 배지에 넣어 주고 각각에 대한 영향을 알아보았다. 다른 배지 성분은 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L, K₂HPO₄ 0.45 g/L로 고정시켰다. 배양은 30°C에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. 실험 결과 MgCl₂·6H₂O와 (NH₄)₂SO₄를 첨가한 경우 각 농도에 무관하게 erythritol 생산성과 수율은 낮게 나타났다. 이 결과는 배지 성분으로 마그네슘과 황 모두 중요한 성분임을 알 수 있다.

K₂HPO₄의 영향을 알아보기 위해 다른 배지 성분은 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L로 고정시키고 MgSO₄·7H₂O 농도는 앞의 실험에서 좋은 결과를 얻은 0.18 g/L, 0.35g/L 두 가지에 대해 K₂HPO₄의 농도를 0.22 g/L에서 3.58 g/L까지 변화시키며 실험을 하였다. 배양은 30°C에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.18 g/L일 때는 K₂HPO₄의 농도가 1.70 g/L까지는 농도가 높아질수록 erythritol 생산량이 증가하였지만 K₂HPO₄농도가 1.70 g/L보다 더 높아지면 erythritol의 생산량이 감소하였으며 MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.35 g/L일 때는 MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.18 g/L일 때보다는 erythritol이 더 적게 생성되었다.

이렇게 배지 성분과 그양을 순차적으로 바꾸어 최적의 배지를

Table 3. Effects of salts addition on erythritol production.

yeast extract	medium (g/L)			cell conc. (g/L)	final pH	residual glucose conc. (g/L)	erythritol conc. (g/L)	glycerol conc. (g/L)	erythritol yield(%)
	urea	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄ · 7H ₂ O						
5	1.00	0.00	0.00	36.6	3.2	0.0	125.5	96.6	31.3
3	1.86	0.22	0.18	30.1	3.1	0.0	131.7	61.5	32.9
3	2.72	0.45	0.35	44.1	3.5	2.5	151.1	59.3	38.0
3	4.43	0.90	0.70	23.6	3.6	14.0	122.0	40.3	31.6
1	2.72	0.49	0.35	28.4	3.0	54.2	99.3	81.8	28.7
1	4.43	0.90	0.70	34.3	3.0	62.2	103.2	58.9	30.6
1	7.86	1.79	1.41	26.4	3.9	213.9	48.4	55.5	26.0

Table 4. Effects of urea, MgSO₄ · 7H₂O and K₂HPO₄ on erythritol production.

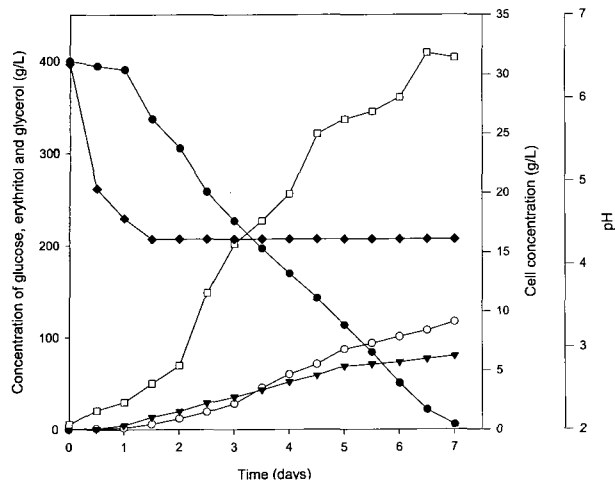
glucose	yeast extract.	urea	MgSO ₄ · 7H ₂ O	K ₂ HPO ₄	residual glucose conc.(g/L)	erythritol conc.(g/L)	glycerol conc.(g/L)	erythritol yield(%)
400	3	2.72	0.35	0.45	2.5	151.1	59.3	40.0
		1.86	0.35	0.45	1.6	124.6	66.2	31.2
		2.72			2.5	151.1	59.3	40.0
		4.43			13.4	155.3	47.9	40.2
		0.00			2.72	0.45	226.1	59.1
		0.04	104.0	106.0			58.7	35.8
		0.09	149.9	147.0			64.2	58.8
		0.18	10.0	166.4			58.1	42.7
		0.35	2.5	151.1			59.3	40.0
		0.70	13.3	128.4			48.4	33.2
		0.18	0.45	0.90	19.0	166.4	58.1	43.7
					12.4	169.5	51.6	43.7
					2.1	180.0	45.7	45.2
					6.1	173.5	46.2	44.0

언는 실험을 하여 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L, K₂HPO₄ 1.70 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.18 g/L의 성분을 가진 최적의 배지를 얻게 되었다. 이 배지는 기존의 배지인 포도당 400 g/L, yeast extract 5 g/L, urea 1 g/L의 배지에 비해 erythritol 생산성이 0.747 g/L에서 1.071 g/L로 향상되었으며 수율은 31.4%에서 45.2%로 향상되었다. 또한 글리세롤의 생산량도 96.6 g/L에서 45.7 g/L로 감소되는 성과를 거두었다. 이는 현재 실용화되고 있는 에리스리톨 제조 공정에 미치지 못하며 배지에 들어가는 yeast extract는 비용을 증가시킨다. 그러므로 기타 성분을 추가하여 배지에 들어가는 yeast extract를 완전히 제거하는 공정이 요구된다.

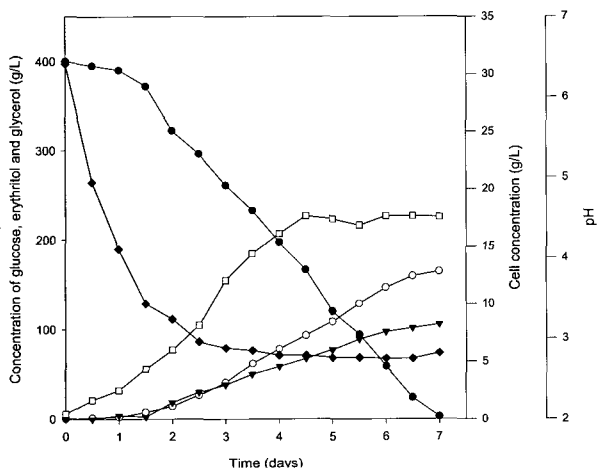
5L 발효기 배양 및 pH의 영향

이제까지의 실험결과를 바탕으로 산업적인 규모에서의 배양에 대한 가능성을 알아보기 위해 5L배양을 했다. 앞에서 가장 우수한 erythritol 생산성과 수율을 보인 배지 조성은 포도당 400 g/L, yeast extract 3 g/L, urea 2.72 g/L, K₂HPO₄ 1.79 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.18 g/L이며 이 배지를 이용하여 5L 발효기로 배양을 하였다. Flask culture의 경우 7일째의 최종 pH가 약 3정도를 나타내었으며 pH를 높일 경우 세포대사의 변화로 에리스리톨의 생산량이 많아질 것이 기대된다. 배양은 최적화된 배지를 이용하여 배양하고 이 때에 5N NaOH를 넣어 주면서 pH를 4.3으로 조절해

주는 경우와 조절해 주지 않는 경우로 나누어서 30℃에서 7일에 걸쳐 이루어졌다. 실험 결과는 Figure 1에 나타냈다. 배양 1일째 부터 pH를 조절한 배양기와 조절하지 않은 배양기 모두에서 거품이 발생하기 시작했으며 3일째를 넘어서면 양쪽 모두 배양액의 점도 증가와 세포의 응집성으로 인해 발효기 윗부분은 교반이 제대로 이루어지지 않았다. Erythritol 생산량은 pH를 조절했을 때는 117.1 g/L밖에 생성되지 않았지만 pH를 조절하지 않은 경우에는 erythritol 164.5 g/L가 생성되었다. 세포의 성장은 pH를 조절했을 때가 32 g/L로 pH를 조절하지 않았을 때의 18 g/L보다 훨씬 높았다. 이는 pH가 높아지면 세포의 성장에 도움을 주지만 에리스리톨의 생산은 저해되는 것으로 보인다. 5L 배양 결과는 플라스크 배양 결과에 비해 에리스리톨 생산량과 세포성장 이 적고 글리세롤 생산량이 많았는데 그 이유는 거품 발생으로 인한 세포의 응집성과 배양액의 점도 증가로 인해 발효기의 윗부분까지 교반이 되지 않아서 산소 공급이 제대로 이루어지지 않았기 때문으로 보인다. 따라서 발효기의 윗부분까지도 교반할 수 있는 발효기를 제작하여야 할 것이며 또 산소 공급을 보다 원활하게 할 수 있는 조치가 필요할 것이다. 이것은 aeration rate나 agitation speed의 최적화로 어느 정도 가능할 것으로 보인다. 또한 fed-batch 방식으로 배양을 할 경우 기질 저해를 줄여 erythritol 생산성을 증가시킬 수 있기 때문에 이에 대한 연구가 필요하다.



(a)



(b)

Figure 1. Results of erythritol fermentation (a) with pH control and (b) without pH control in 5L fermentor. Glucose(●), erythritol(○), glycerol (▼), cell density(□), pH(◆). (a)Results of fermentation with pH control (b)Results of fermentation without pH control

요약

에리스리톨을 산업적으로 대량생산하기 위해서는 에리스리톨의 생산성을 높이고 부산물인 글리세롤의 생성을 억제하는 배지 및 발효 공정의 최적화가 필요하다. 에리스리톨 생성을 위한 최적 탄소원은 포도당이고 최적 농도는 400 g/L이며 최적 온도는 30℃였으며 이 때 산소는 과잉으로 공급해 주어야 함을 알았다. 에리스리톨의 수율과 생산성을 향상시키고 배지가격을 줄이기 위해 효모 추출물의 사용을 5 g/L에서 3 g/L로 줄이고 urea 2.72g/L, K₂HPO₄ 1.79 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.18 g/L를 첨가해 줌으로써 에리스리톨 수율을 31.4%에서 45.2%로 에리스리톨 생산성을 0.747 g/L/h에서 1.071 g/L/h로 향상시켰다. 또한 글리세롤

의 생산량도 96.6 g/L에서 45.7 g/L로 줄었다. 이 최적 배지를 바탕으로 5L 발효기에서의 재현성과 pH에 대한 영향을 알아보기 위해 실험을 한 결과 pH를 조절한 경우에 에리스리톨 생산성이 낮아졌다. 5L 발효에서는 다량의 거품이 발생하는 것을 관찰하였다.

감사의 글

본 연구는 '96년도 국책개발연구사업으로 과학기술부와 체인계당으로부터 연구비를 지원받았음에 감사드립니다. 논문정리에 도움을 준 조성주군에게도 감사드립니다.

참고 문헌

- Roper, H., J. Goossens (1993), Erythritol, A New Raw Material for Food and Non-food Applications, *Starch/Stärke*, **45**, 400-405.
- Roper, H., J. Goossens (1994), Erythritol, A New Bulk Sweetener, *INI NR.1/2*, 27-33.
- Anon (1994), New Horizons in Low Calorie Bulk Sweeteners, *Food Trade Review*, **64**, 75.
- Tsunew, O., T. Sasaki (1993), 바이오テクノロジー의産物「에리스리톨」, *New Food Ind.*, **35**, 38-45.
- 小田恒郎 (1989), 日下部 正裕, 佐々木 堯 (1989). 에리스리톨의製法と食品工業への応用, *食品工業*, 41-48.
- Sasaki, T. (1989), 에리스리톨의生産技術. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **63**, 1130-1132.
- Kyoji, N. (1992), Metabolism and Disposition of Erythritol after Oral Administration to Rats, *Nutrient Metabolism*, **122**, 1266-1272.
- 전영중, 서승현 (1995), *생물화학*, **9**, 24-29.
- Marina, A.Y., Aoki, G. M. Pastore, and Y. K. Park (1993), Microbial Transformation of Sucrose and Glucose to Erythritol, *Biotechnology Letters*, **15**, 383-388.
- Hajny, G. J., J. H. Smith, and J. C. Garver (1964), Erythritol Production by a Yeastlike Fungus, *Applied Microbiology*, **12**, 240-246.
- Hattori, K., T. Suzuki (1993), Large Scale Production of Erythritol and Its Conversion to D-Mannitol Production by n-Alkane-grown *Candida zeylanoides*, *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 1203-1208.
- Hattori, K., T. Suzuki (1993), Production of Erythritol by n-Alkane-grown Yeasts *Agr. Biol. Chem.* **38**, 581-586.
- Ishizuka, H., K. Wako, T. Kasumi, T. Sasaki (1989), Breeding of a Mutant of *Aureobasidium* sp. with High Erythritol Production, *J. of Fermentation and Bioengineering*, **68**, 310-314.
- Wako, K., K. Gaku, K. Nawaguchi (1988), 폴리올高生産性新規酵母, *Hakkokogaku*, **63**, 209-215.
- Wako, K., H. Ishizuka (1988), *Aureobasidium* sp. SN-115 による 에리스리톨의生産, *Hakkokogaku*, **63**, 217-223.
- Sasaki, T., T. Kasumi (1987), *EP 0262463*.
- 박지만, 박홍우 (1998), 새로운 에리스리톨 생산균주인 *Moniliella suaveolens* var. *nigra*의 탐색 및 특성, *한국생물공학회지*, **13**, 331-335.