

양파 착즙액과 포도당 산화효소의 반응 특성

최봉영* · 이은미 · 김영란¹ · 김현중¹ · 정봉우¹
전라북도 생물벤처지원센터, ¹전북대학교 환경·화학공학부

Characteristics of Glucose Oxidase Reaction of Onion Juice

Bong-Young Choi*, Eun-Mi Lee, Young-Ran Kim¹,
Hyun-Jong Kim¹ and Bong-Woo Chung¹

Jeollabuk-do Biotechnology and Bioventure

¹Department of Environmental and Chemical Engineering, Chonbuk National University

The onions are considered to be a favorable functional source of beverage because they contain much sugar and various nutrients, and they are juicy vegetable. Recently, consumers have a new trend to take functional foods with health benefits. To meet this need, this study was the basic research to establish a manufacturing process of functional onion beverage by glucose oxidase. Glucose oxidase catalyzes reaction of glucose oxidation and makes generation of gluconic acid. Kinetics of the reaction was also investigated, and maximum glucose consumption rate (V_{max}) of $26.1 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ and K_m of 5.84 g/L were obtained. Optimum conditions were obtained when the glucose oxidase catalyzed reaction was carried out at temperature of 25°C, agitation rate of 450 rpm and aeration rate of 4 vvm in a 2.5 L jar fermentor. Finally, the enzyme reactor was 10-times scaled up and a similar glucose oxidation performance was achieved in the scaled-up reactor.

Key words: onion, glucose oxidase, gluconic acid

서 론

백합과 과속인 양파(*Allium cepa* L.)는 내한성 식물체로 다양한 기후조건에서 생육할 수 있어 거의 전 세계에서 재배되며 식용으로 사용되고 있다. 우리나라에서도 주요 원예작물 중 하나로서 양파생산량은 년 간 약 63만 톤이다⁽¹⁾. 양파에는 지방, 탄수화물, 단백질 같은 일반 성분 이외에 기능성 식품에 대한 소재로서 알릴 프로필 이황화물(allyl propyl disulfide)과 같은 황함유화합물과 플라보노이드(flavonoid)성분이 수십 종 함유되어 있는데, 이와 같은 물질들로 인해 항균 효과, 중금속의 해독작용, 혈청콜레스테롤의 감소, 항동맥경화효과, 항고혈압효과, 항당뇨병효과, 발암성물질의 활성감소, 암세포의 효소작용저해, 항암물질의 활성증대 및 변이암세포의 생육저해 작용 등이 뛰어난 것으로 알려져 있다⁽²⁻⁶⁾.

최근 식생활이 서구화되어 감에 따라 고혈압 당뇨병, 고지혈증 등 각종 성인병이 증가되어 이에 대한 예방과 치료를 위해 건강기능성 식품 및 생약재로 제조된 건강식품의 소비

가 증가되고 있다. 따라서 채소로부터 가공된 주스의 소비는 꾸준히 증대될 것으로 보인다. 건강식품 또는 기능성 식품은 식품의 소재가 가지고 있는 고유의 기능적 특성, 다른 기능성 소재의 첨가(강화) 그리고 기능성 부여를 위한 가공(발효, 효소처리) 등의 기술중심으로 발전하고 있다. 향후 발효유를 중심으로 한 제품이나 두류, 허브 등의 식물성 소재를 활용한 제품에 발효 또는 효소처리와 같은 생물 공학기술을 이용하거나, 식품 소재가 가지고 있는 본연의 성분 등의 파괴를 가능한 최소화하면서 원하는 목적의 가공산물을 얻을 수 있는 기술인 minimal processing 등을 접목시켜 성인병 예방 및 건강증진을 추구하는 제품중심으로 기술개발 및 시장확대가 예상된다⁽⁷⁾.

이와 같은 변화에 부응하기 위하여 식물성 소재인 양파를 포도당 산화효소로 처리하여 양파내의 풍부한 포도당(glucose)을 글루콘산(gluconic acid)으로 전환시키고 양파 본연의 성분의 파괴는 최소화하여 건강기능성 음료를 제조할 수 있을 것으로 기대되고 있다. 한편, 글루콘산 함유음료는 부드러운 신맛의 청량감을 제공하며 또한 일상생활에서 인체에 부족하기 쉬운 칼슘, 철, 마그네슘, 망간, 구리 등 금속이온의 첨가에 의해 글루콘산염의 형태로 전환하여 금속이온의 체내 흡수 이용율을 높일 수 있는 음료로 개발이 가능하다^(8,9).

본 연구에서는 포도당 산화효소(glucose oxidase)를 이용한 양파음료의 제조 가능성을 검토하기 위한 기초연구로서 포

*Corresponding author : Bong-Young Choi, Jeollabuk-do Biotechnology and Bioventure, 452-32, Jang-Dong, Deokjin-ku, Chonju 561-360, Korea
Tel: 82-63-270-2276
Fax: 82-63-271-2275
E-mail: cbioven@yahoo.co.kr

도당 산화효소를 이용한 양파즙 내의 포도당 산화반응에 대한 연구를 수행하였다. 특히 양파즙에서의 포도당산화효소의 반응특성과 온도, 통기속도, 교반속도 등이 반응에 미치는 영향을 살펴보고 20 L 규모로 scale up하여 글루콘산이 함유된 양파음료의 제조 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

양파는 전남 무안지역에서 생산된 것을 구입하여 상부와 하부의 뿌리부분을 제거하고 mixer(Hanil, FM880, Korea)를 이용하여 파쇄 한 후 착즙하여 실험에 사용하였다.

본 실험에서 사용된 포도당산화효소⁽¹⁾는 Novozym[®] 771 (Novo, Norway)을 구입하여 사용하였다.

Novozym[®] 771의 kinetic parameter 측정

Novozym[®] 771을 이용한 포도당 소모속도에 대한 kinetic model과 그에 따른 여러 가지 상수 값을 알아보고자 1 L 삼각플라스크에 양파즙과 증류수를 혼합하여 포도당 농도가 2.4 g/L, 4.7 g/L, 6.97 g/L, 9.11 g/L, 11.9 g/L가 되도록 200 mL씩 조제하였다. Novozym[®] 771을 10 mL씩을 첨가해 주고 진탕 배양기(Model 750, Dong Yang Science Co. Korea)에서 30°C, 200 rpm으로 효소 반응시키며 포도당 농도를 5분마다 측정하였다. 포도당 농도는 일정액의 반응액을 2 min, 12,000 rpm으로 원심분리한 후 상등액을 취해 glucose analyzer(YSI 2700)를 이용하여 측정하였다. Membrane은 Dextrose membrane kit(No. 2365), standard는 Dextrose standard(No. 2356), Buffer kit(No. 2357)을 사용하였다. 초기반응속도

$$\left(-\frac{dC_g}{dt}\right)_{t=0}$$

는 시간에 따른 포도당 농도를 측정 한 후 수치미분법(numerical differentiation formula)을 이용하여 계산하였다. 여기서 C_g 는 포도당 농도이다.

Jar-fermentor (2.5 L) 실험

2.5 L jar fermentor(KF Series KoBiotec Co., Korea)를 효소반응기로 응용하여 실험에 사용하였다. 반응기는 water jacket을 통해서 온도를 일정하게 유지시키고 통기는 컴프레서(compressor)에 의해 만들어진 압축공기를 스파저(sparger)

를 통해 반응액 내부로 공급하게 구성되어 있다. 임펠러는 6-flat-blade disc-turbine이며 3개의 방해판(baffle)이 있어 와류가 감소되도록 되어있다.

양파즙과 증류수를 각각 500 mL씩 혼합하여 조업부피가 1 L가 되도록 만들어 준 후 포도당 산화효소 Novozym[®] 771을 첨가해주는 데 첨가량은 1 L의 조업부피당 38.6 mL이었다.

$$10 \text{ g glucose/L} \times \frac{1 \text{ mol glucose}}{180 \text{ g glucose}} \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{1 \text{ mol}} = 5.56 \times 10^4 \text{ mmol/L}$$

$$1,200 \text{ GODUnit/g} \times 1.2 \text{ g/mL} = 1,440 \text{ GODUnit/mL}$$

$$\frac{5.56 \times 10^4 \mu\text{mol/L}}{1,440 \text{ GODUnit/mL}} = 38.6 \text{ mL/L}$$

반응기 내에서의 온도, 통기속도, 교반속도의 영향을 살펴보기 위해서 온도 25와 30°C 통기속도 0, 2, 4 vvm, 교반속도 250, 350, 450 rpm의 조건을 선택하였다.

포도당 농도를 측정하여 포도당 소모속도 즉, 효소반응속도를 계산하였다. 포도당 농도 측정은 앞에서와 같이 glucose analyzer(YSI 2700)를 사용하였다. 초기반응속도는 시간에 따른 포도당 농도를 측정 한 후 수치미분법을 이용하여 계산하였고 반응율은 포도당 농도를 측정하여 초기 2시간 동안 반응에 참여하는 정도, 즉 전체적인 반응속도를 나타내는 값으로서 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{반응율}(\%) = \frac{\text{포도당 농도}(t=0) - \text{포도당 농도}(t=2 \text{ hr})}{\text{포도당 농도}(t=0)} \times 100$$

20 L 효소 반응기 제작

2.5 L jar-fermentor에서 확립된 양파즙에서의 반응특성, 반응인자의 영향과 최적화 값을 바탕으로 20 L bench 규모의 효소 반응기를 제작하였다⁽¹²⁾. 제작된 효소반응기는 온도 제어, 통기, 교반이 가능한 형태로 제작하였다. 반응기는 stainless steel을 사용하여 원형관으로 제작하였으며 baffle은 장착하지 않았다. 가열은 baffle-type coil, 임펠러는 marine propeller type을 사용하였고, 압축기의 공기가 반응기 하부에 위치한 스파저(sparger)를 통하여 반응기 안으로 유입된다. 반응기의 직경과 높이는 각각 0.3 m이고, 임펠러의 직경은 반응기 직경과 1:3이 되도록 0.1 m로 해 주었다. 반응기 바닥으로부터 임펠러의 높이는 반응기 직경과 1:3이 되도록 0.1 m로

Table 1 Specification of the 20 L reactor

Specification	Bench Scale	Lab. Scale
Vessel	Round shape (STS304)	Round shape (Glass)
-Diameter	0.3 m	0.13 m
-Height	0.3 m	0.205 m
-Total Volume	20 L	2.5 L
-Working Volume	10 L	1 L
Agitator	0.2 kw	40 W
Impeller	Marine propeller (STS304)	Rushton turbine
-Diameter	0.1 m	0.066 m
Heater	Baffle-type coil (STS304)	Jacked vessel

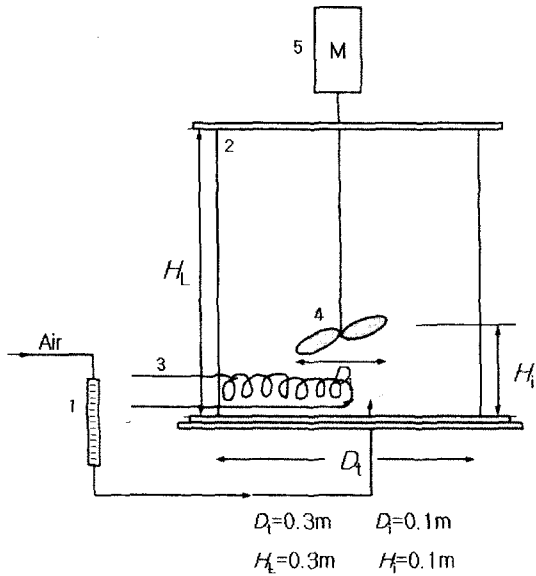


Fig. 1. Schematic diagram of the 20 L reactor: 1, rotameter; 2, vessel; 3, internal baffle-type coil; 4, marine propeller; 5, motor.

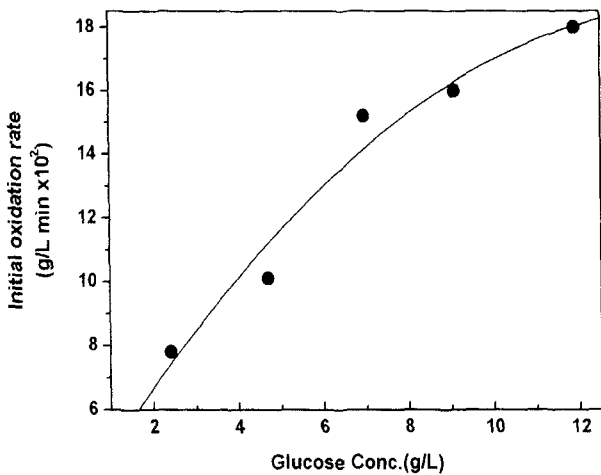


Fig. 2. Effect of glucose concentration on its initial oxidation rate.

해주었다⁽³⁰⁾. Table 1에 20 L 효소 반응기의 체적을 2.5 L jar-fermentor과 비교하여 나타내었으며 도면은 Fig. 1과 같다.

결과 및 고찰

Novozym® 771의 포도당 소모속도에 대한 kinetic model

Novozym® 771을 이용한 포도당 소모속도에 대한 kinetic model과 그에 따른 여러 가지 상수 값을 계산하기 위한 실험을 수행하였는데 Fig. 2에서는 포도당 농도에 따른 소모속도, 즉 반응속도를 나타내었다. 반응속도는 낮은 농도에서는 선형적으로 증가하지만 농도가 높아짐에 따라 점차 일정값에 접근하는 경향을 보였고, 이는 enzyme kinetics에서 잘 알려진 속도식인 Michaelis Menten식이 적용되어진다.

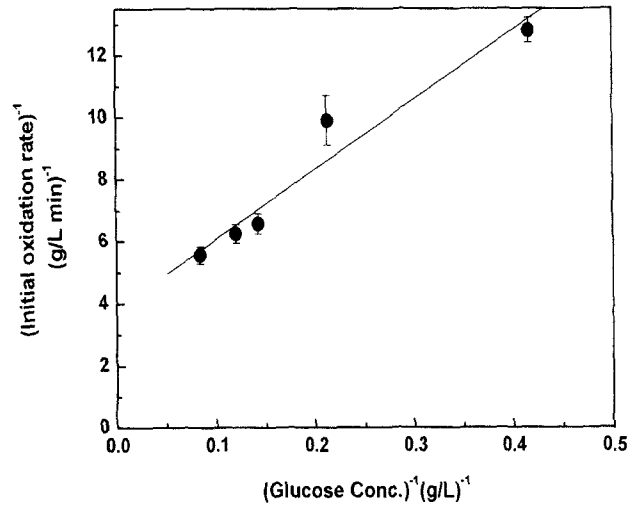


Fig. 3. Lineweaver-Burk plot to evaluate V_{max} and K_m of Michaelis Menten equation: $Y=22.4X+3.84$.

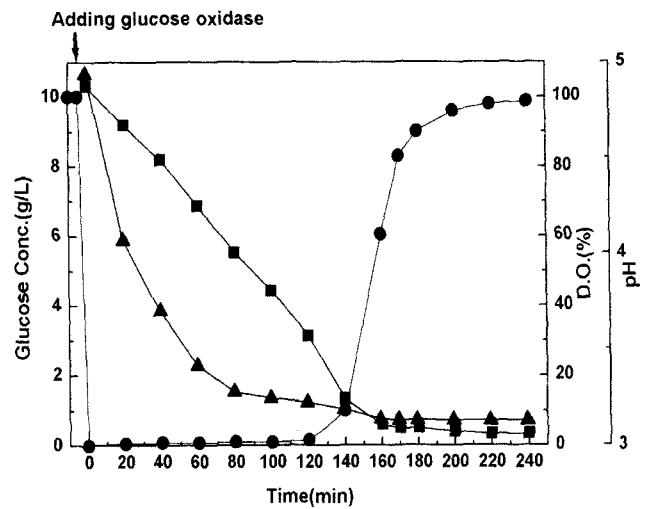


Fig. 4. Characteristics of glucose oxidase catalyzed reaction at 25°C, 2 vvm and 350 rpm: (■) Glucose Conc.; (●) D.O.; (▲) pH.

$$V = \frac{V_{max} \cdot S}{K_m + S} \quad (1)$$

여기서 V_{max} 는 포도당의 최대 소비속도이고 K_m 은 $V = 1/2 V_{max}$ 일 때의 포도당 농도이고 S 는 포도당 농도이다. V_{max} 와 K_m 을 얻기 위해 $1/V$ vs. $1/S$ 를 도식(Lineweaver-Burke plot) 하였으며 이 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 기울기 값 K_m/V_{max} 및 y-절편값 $1/V_{max}$ 로부터 구한 V_{max} 는 $26.1 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 그리고 K_m 은 5.84 g/L였다.

Jar-fermentor(2.5 L)에서 포도당 산화효소의 반응특성

Jar-fermentor를 응용한 효소 반응기(조업부피 1 L)에서 양파즙의 포도당 산화반응에 관한 특성을 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4는 25°C, 2 vvm, 350 rpm에서의 포도당 산화반응의 경시변화이다. 시간에 따라 포도당 산화효소의 촉매작용에 의

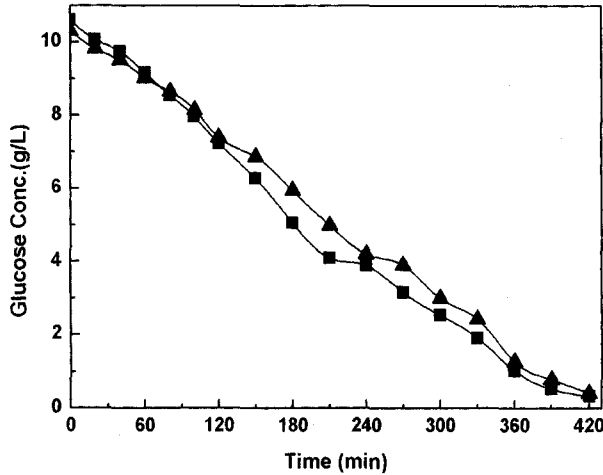


Fig. 5. Effect of temperature on glucose oxidase catalyzed reaction at 2 vvm and 250 rpm: (■) 25°C; (▲) 30°C.

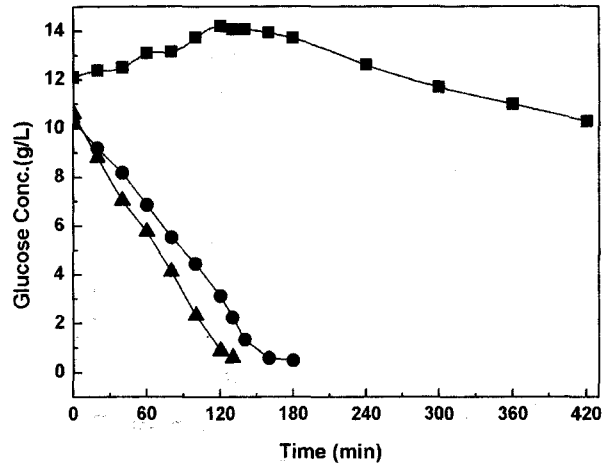


Fig. 6. Effect of aeration rate on glucose oxidase catalyzed reaction at 25°C and 350 rpm: (■) 0 vvm; (●) 2 vvm; (▲) 4 vvm.

해 포도당은 소모되어 글루콘산으로 전환되므로 포도당 농도는 감소한다. 포도당이 소모되는 초기반응속도는 $5.9 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이며 반응율은 69.6%이다. 글루콘산이 생성되므로 pH는 감소하는 경향을 보이며 양과즙의 pH는 4.5~5이며 포도당이 80%이상 전환된 후에는 3~3.5이다. 포도당 산화효소를 첨가함과 동시에 용존산소농도(D.O., %)는 급격하게 0.2%까지 감소하며 포도당이 소모되는 약 2시간 동안 0% 근처의 값을 보이고 포도당이 90%이상 전환된 후에는 급격히 증가하여 90%이상으로 포화되는 경향을 보인다. 양과즙의 포도당 산화반응에서 반응에 제공되는 산소 양이 반응속도를 결정짓는 중요한 인자로 작용함을 알 수 있었다. 따라서 산소량을 결정짓는 통기량과, 산소전달에 영향을 주는 교반속도가 중요한 실험인자임을 알 수 있었다.

온도의 영향

양과즙에서 포도당산화반응에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위해 교반속도, 통기속도를 고정시키고 온도만 변화시켜가며 효소반응속도를 측정하였다. Fig. 5에서 보여지는 것과 같이 2 vvm, 250 rpm에서 온도를 25, 30°C로 하여 실험한 결과 25°C일 때 초기반응속도는 $3.18 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이며 30°C에서 초기반응속도는 $2.90 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이었다. 초기반응속도는 25°C일 때가 30°C에 비해 1.1배 증가된 값을 보였다. 반응율은 25°C일 때가 31.6%, 30°C가 28.1%로서 25°C에서 높은 반응속도를 관찰 할 수 있었다. Novozym® 771이 25~40°C의 넓은 영역에서 높은 활성을 나타내지만 양과즙에 함유되어 있는 각종 영양성분의 변성을 최소화하기 위해서는 보다 낮은 온도가 유리하므로 따라서 25°C가 30°C보다 본 효소반응에 적절한 조건이라고 판단하였다.

통기속도의 영향

포도당 산화효소를 이용하여 양과즙의 포도당산화반응에 미치는 통기속도의 영향을 알아보기 위해 25°C, 350 rpm에서 통기속도만 0, 2, 4 vvm으로 변화시켜가며 실험하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 0 vvm, 즉 공기를 전혀 주입하지 않

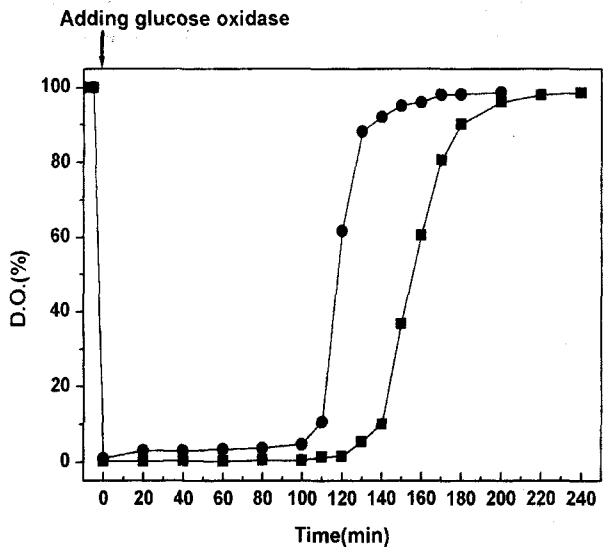


Fig. 7. Change of dissolved oxygen concentration (D.O.) at different aeration rate (25°C, 350 rpm): (■) 2 vvm; (●) 4 vvm.

았을 경우에는 초기에 포도당 농도가 증가하는 경향을 보이며 이후에도 반응이 거의 진행되지 않음을 알 수 있었다. 따라서 양과즙의 포도당산화 반응에는 공기주입이 필수적이라 생각되며 포도당산화효소가 산소를 필요로 하는 효소임을 재확인 할 수 있었다. 초기반응속도는 통기속도가 4 vvm일 때 $9.18 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 으로 2 vvm인 경우의 $5.9 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 보다 1.56배 증가함을 알 수 있었다. 반응율 역시 통기속도가 4 vvm이 91.5 %, 2 vvm이 69.6 %로서 4 vvm이 더 높은 반응속도를 보였다. 통기속도가 클 때 즉, 반응에 제공되는 산소량이 많을 수록 반응속도가 증가한다는 사실을 확인할 수 있었다. 이와 같은 통기량에 따른 효소반응속도의 증가 효과는 포도당 산화효소 반응 메커니즘으로 설명될 수 있다⁽¹³⁾.

Fig. 7은 통기속도가 2, 4 vvm에서의 시간에 따른 용존산소농도 변화를 나타내었다. 용존산소농도의 변화 경향은 반응특성에서 설명한바 있다. 포도당 소모기에 통기속도가 2

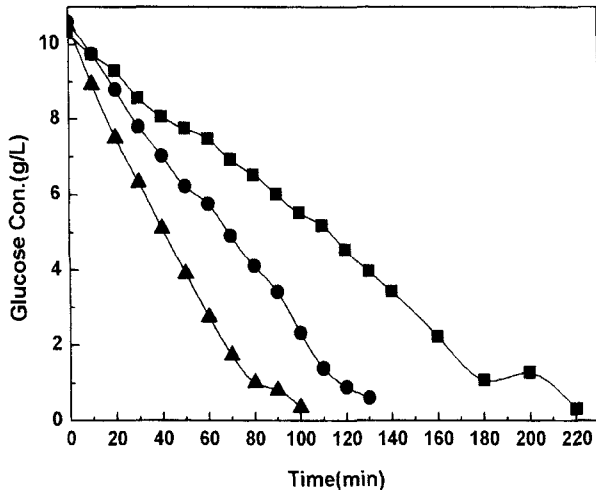


Fig. 8. Effect of agitation rate on glucose oxidase catalyzed reaction at 25°C and 4 vvm: (■) 250 rpm; (●) 350 rpm; (▲) 450 rpm.

vvm일 때는 용존산소 농도가 0~0.5%이고 4 vvm일 때는 3~4%의 농도로 유지됨으로서 4 vvm에서 산소가 포화됨을 확인할 수 있었다. 따라서 4 vvm이 본 반응의 적절한 값이라 생각된다.

교반속도의 영향

25°C, 4 vvm에서 교반속도를 250, 350, 450 rpm으로 다르게 하여 포도당 산화반응에 미치는 교반속도의 영향을 조사하였다. Fig. 8은 각 교반속도에서 시간에 따른 포도당 농도 변화를 보여주고 있다. 250 rpm에서 초기 반응속도는 $6.35 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이며 350 rpm은 $9.18 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 로서 250 rpm보다 1.45배 증가되었다. 또한 450 rpm에서 초기반응속도는 350 rpm의 그것보다 1.76배 증가하였고 250 rpm보다는 무려 2.55배나 증가한 $16.2 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이었다. 교반속도가 증가함에 따라 반응속도도 증가하는 경향을 보였다. 반응율은 450 rpm에서 99.1%, 350 rpm에서 91.5%, 250 rpm에서 56.1%로서 450 rpm에서 반응율이 높음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 교반속도의 증가는 산소가 반응액으로의 확산을 유리하게 해주고, 즉 산소전달 속도의 향상과 산소, 효소, 포도당 사이의 접촉횟수를 증가시켜주기 인 것으로 판단되었다. 따라서 450 rpm을 이 반응의 적절한 교반속도로 선택하였다.

Scale-up에 따른 효소반응특성

제작한 20 L 효소 반응기에서 조업부피 10 L로 25°C, 2 vvm, 350 rpm에서 양파즙의 포도당 산화반응을 살펴보았다. 초기반응속도는 10 L일 때 $19.3 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 으로 1 L일 때의 $5.9 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 보다 빠른 경향을 보였지만 2시간 동안의 반응율은 53.7%로서 1 L의 69.5%보다 다소 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 현상은 사용된 임펠러의 종류가 달라진 것과 scale-up에 따른 반응기의 직경과 높이의 변화에 기인하는 두 가지 영향으로 생각된다. 이 같은 결과를 통해 전체적인 반응속도가 크게 변하지 않으며 본 효소 반응

은 매우 용이하게 scale-up 될 수 있음을 알 수 있었다.

요 약

양파가공기술의 일환으로 양파에 포함된 풍부한 포도당을 포도당산화효소(glucose oxidase)를 이용하여 글루콘산(gluconic acid)이 함유된 건강기능성 양파음료를 개발하기 위한 기초 연구를 수행하였다. Novozym® 771의 포도당 소모속도에 대한 kinetic parameter를 알아본 결과 Michaelis Menten equation의 특성치들은 $V_{\max} = 26.1 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이고 $K_m = 5.84 \text{ g/L}$ 이었다. 양파즙에서의 포도당 산화효소의 반응특성을 알아보기 위해 2.5 L jar fermentor에서 조업부피 1 L로 각 조건에서 실험 하였다. 온도의 영향을 검토한 결과 25°C일 경우 초기반응속도가 $3.18 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$ 이며 30°C일 때보다 1.1배 증가된 값을 보임으로서 온도가 30°C로 증가시 반응속도는 다소 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 통기속도의 영향을 살펴본 결과 반응속도는 통기량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였다. 0 vvm일 때는 반응이 거의 진행되지 않았으며 4 vvm일 때 초기반응속도 $9.18 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$, 91.5%로 만족할만한 높은값을 보였으며 용존산소농도의 값을 측정함으로써 4 vvm일 때 산소가 포화됨을 확인할 수 있었다. 교반속도는 측정되었던 반응 조건 중 반응속도에 큰 영향을 주는 중요한 조건이었다. 450 rpm일 때 $16.2 \times 10^{-2} \text{ g/L} \cdot \text{min}$, 99.2%으로서 최대값을 보였다. 교반속도의 증가는 산소전달과 물질전달을 용이하게 해줘 결국 반응속도가 증가되는 것으로 판단된다. 2.5 L jar fermentor에서의 결과를 바탕으로 20 L bench 규모의 효소 반응기를 제작, 20 L 효소 반응기에서 조업부피 10 L로 25°C, 2 vvm, 350 rpm에서 양파즙의 포도당 산화반응을 살펴본 결과 전체적인 반응속도가 크게 변하지 않는 것으로 판단되어 본 효소 반응은 매우 용이하게 scale-up 될 수 있는 것으로 판단되었다.

문 헌

1. Kwon, Y.J., Kwon, J.H. and Kim, H.K, Oleoresin content and functional properties of fresh onion by microwave-assisted extraction. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 876-881 (1999)
2. Kang, S.K., Kim, Y.D., Hyun, K.H. and Kim, Y.W. Development of separating techniques on quercetin-related substances in onion (*Allium cepa* L.) 1. Contents and stability of quercetin-related substances in onion. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 682-686 (1998)
3. Kang, S.K., Kim, Y.D., Hyun, K.H. and Kim, Y.W. Development of separating techniques on quercetin-related substances in onion (*Allium cepa* L.) 2. Optimal extracting condition of quercetin-related substances in onion. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 687-692 (1998)
4. Na, K.S., Suh, H.J., Chung, S.H. and Son, J.Y. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 595-600 (1997)
5. Shoji, F. Cancer prevention by organosulfur compounds from garlic and onion. J. Cellular Biochem. Supplement 27: 100-105 (1997)
6. Park, Y.K., Jung, S.T., Kang, I.B. and Cheun, K.S. Production of a vinegar from onion. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 75-79 (1999)
7. Ministry of Commerce, Industry and Energy. Analysis of Bio industry (biofood, bioinformatics), Korea (2002)

8. Chun, B.W., Kim, D.H., Chung, B.W. and Lee, H.C. Production of glucose oxidase using recombinant yeast. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 29: 270-275 (1996)
9. Lee, K.C. Beverage comprising gluconic acid and their manufacturing method. Korea Patent 10-1996-058693 (1996)
10. Park, B.S., Cho, B.K., Lee, S.Y., Lim, S.H. and Kim, D.I. Optimization of biotransformation process for sodium gluconate production by *Aspergillus niger*. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 14: 309-314 (1999)
11. Klein, J. Biotransformation of glucose to gluconic acid by *Aspergillus niger*-study of mass transfer in an air lift bioreactor. Biochem. Eng. J. 10: 197-205 (2002)
12. Kim, W.J. Study on the scale up of large scale fermentor designing. Biotechnol. News 2: 359-362 (1995)
13. Zhao, H. Use of the glucose oxidase system for estimation of oxygen transfer rate in a solid-state bioreactor. Enzyme Microb. Technol. 30: 843-846 (2002)

(2003년 4월 4일 접수; 2003년 5월 26일 채택)