

# *Pichia stipitis*를 이용한 모자반 가수분해물로부터의 bioethanol 생산 시 최적 surface aeration rate

이상은, 김혜지, 최운용<sup>1</sup>, 강도형<sup>2</sup>, 이현용<sup>1</sup>, 정경환\*

## Optimal Surface Aeration Rate for Bioethanol Production from the Hydrolysate of Seaweed *Sargassum sagamianum* Using *Pichia stipitis*

Sang-Eun Lee, Hye-Ji Kim, Woon Yong Choi<sup>1</sup>, Do Hyung Kang<sup>2</sup>, Hyeon-Yong Lee<sup>1</sup>, and Kyung-Hwan Jung\*

접수: 2011년 5월 26일 / 게재승인: 2011년 6월 16일  
© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** We investigated the optimal surface aeration rate during bioethanol production from the hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum* using *Pichia stipitis*. It was observed that, when the working volume was 880 mL in 2.5-L lab-fermentor, the surface aeration rates of 30 to 100 mL/min were the optimal values for bioethanol production, in which this surface aeration rate corresponded to less than 0.05 (1/min) as the oxygen transfer rate coefficient ( $k_La$ ). In addition, during repeated-batch operation was carried out, we examined whether those surface aeration rates were the optimal for bioethanol production. It was also observed that the surface aeration rates of 30 to 100 mL/min in the working volume of 880 mL were the optimal values in terms of the cumulative bioethanol production and bioethanol yield. On the basis of the oxygen transfer rate coefficient it is probable that those surface aeration rates will be applied to the large-scale bioethanol production from the hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum*.

**Keywords:** Surface aeration, *Sargassum sagamianum*, bioethanol, repeated-batch, *Pichia stipitis*

### 1. 서론

효모 *Pichia stipitis* (*P. stipitis*)는 xylose reductase, xylitol dehydrogenase를 사용하여 xylose를 이용한다. 먼저 xylose reductase는 xylose를 xylitol로 환원시키는데, 이 때 NADH 혹은 NADPH를 이용하며 [1], 이어서 xylose dehydrogenase는 xylitol을 xylulose로 산화시킨다. 이 때는 NAD<sup>+</sup>가 관여하는 것으로 알려져 있다 [2]. 그 후 xylulose는 xylulose kinase에 의해 xylulose-5-phosphate로 전환되어 pentose phosphate pathway를 통하여 탄소원과 에너지원으로 이용된다. 그래서 이와 같은 pentose phosphate pathway를 통한 xylose의 이용 시, 특히 xylose가 xylitol로 바뀔 때 tricarboxylic acid cycle로부터의 환원력 공급이 반드시 필요하며 [3], 그러한 이유로 xylose를 *P. stipitis*가 이용할 경우에 배양 중 공기의 공급이 필수적이다.

그러한 이유로 xylose를 함유하고 있는 lignocellulosic biomass로부터 bioethanol을 생산할 때도, xylose가 탄소원으로 이용되기 때문에 효율적인 bioethanol 생산을 위하여서는 적절한 공기의 첨가와 조절이 매우 중요하다. 다시 말하면 너무 많은 공기를 첨가하면 xylose가 완전한 산화과정을 통하여 이용되며, 공기가 충분히 공급되지 못하면 xylose가 *P. stipitis*에 의해서 전혀 이용되지 못한다. 이러한 이유때문에 많은 연구자들은 bioethanol 생산 시, xylose가 탄소원으로 사용될 때 공기 첨가 효과가 bioethanol 생산에 미치는 영향과 공기 첨가방법에 대하여 많은 연구를 수행하여왔다 [4-7].

충주대학교 생명공학과  
Department of Biotechnology, Chungju National University,  
Jeungpyung, Chungbuk 368-701, Korea  
Tel: +82-82-43-820-5246, Fax: +82-43-820-5272  
e-mail: khjung@cjnu.ac.kr

<sup>1</sup>강원대학교 생물소재공학전공  
<sup>1</sup>Division of Biomaterials Engineering, Kangwon National  
University, Chuncheon 200-701, Korea

<sup>2</sup>한국해양연구원  
<sup>2</sup>Korea Ocean Research & Development Institute, Ansan, Gyeonggi-  
do 426-744, Korea

본 연구팀의 선행 연구에서도 유채대 가수분해물과 모자반 (*Sargassum sagamianum*) 가수분해물로 부터 bioethanol 생산 시, 배양액 표면으로 공기를 공급하는 surface aeration 방법을 사용하여 제한적으로 공기를 공급하였다 [8-10]. 이때, 본 연구팀은 가수분해물 속의 당당류를 탄소원으로 사용하였으며, 이러한 surface aeration 방법을 통하여 가수분해물 속의 당당류인 xylose는 산화적으로 완전히 이용되어지지 않았으며, 이러한 제한적인 공기의 공급으로 인한 보다 효율적인 bioethanol의 생산을 확인 할 수 있었다. 물론 이 경우의 bioethanol 수율은 glucose를 사용하는 경우와 비교하였을 때 높지 않았다.

본 연구에서는 효모 *P. stipitis*를 이용하여 xylose를 당당류로 포함하는 모자반 가수분해물로부터 bioethanol을 생산할 때 최적의 surface aeration rate을 조사하는데 그 목적을 두고 있다. 본 연구팀의 선행 보고에서는 2.5-L의 Lab-fermentor에 880 mL의 배양부피를 가지는 배양액에 주로 100 (mL/min)의 surface aeration rate을 적용하였다 [8-10]. 그 동안의 연구에 사용한 이러한 surface aeration rate은 xylose를 포함하는 모자반 가수분해물로부터 bioethanol을 생산할 때, 최적의 surface aeration rate 값은 아니었다. 그래서 본 연구에서는 surface aeration rate을 여러가지로 변화시키면서 최적의 surface aeration rate를 찾는 실험을 수행하였으며, 그 결과로 얻어진 최적의 surface aeration rate을 repeated-batch 배양 공정에 적용하여 bioethanol 생산 성능이 어떠한지를 평가 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 효모

본 연구에서는 효모 *P. stipitis* CBS 7126을 사용하였다.

### 2.2. 모자반 가수분해물 제조

High temperature liquefying system (Ilshin, Republic of Korea)을 이용하여 모자반을 가수분해 하였다. 상세한 가수분해 조건에 대해서는 선행연구에서 상세히 설명하였다 [8,11,12]. 모자반은 한국해양연구원 (Ansan, Republic of Korea)에서 공급해주었으며, 발효조 배양 시, 회전진공농축기 (EYELA, Japan)를 이용하여 환원당 농도가 30 g/L가 되도록 모자반 가수분해물을 농축하여 사용하였다.

### 2.3. Surface aeration 장치를 갖춘 발효조 배양

최적의 surface aeration rate을 찾기 위한 bioethanol 생산 연구를 위하여서 모자반 가수분해물에 yeast extract 10 g/L와 peptone 20 g/L를 용해시켜 제조한 YPH 배지를 사용하였으며, repeated-batch 운전방법을 이용한 bioethanol 생산 연구에서는 CSH 배지 (corn steep liqor 20 mL/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.4 g/L, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.2 g/L)를 사용하였다. Bioethanol 생산을 위한 배양 시, 2.5-L jar fermentor (Korea Fermentor Co, Republic of Korea)를 사용하였으며, 배양부피는 880 mL 였다. Repeated-batch 운전을 위하여,

36시간 동안 batch 배양을 수행한 후, 800 mL의 배지를 수확하고, 새 CSH배지를 멸균하여 발효조에 주입하였다. 이러한 방법을 3회 연이어 수행하였다. 배양 온도는 30°C, pH는 5.0 그리고 교반 속도는 200 rpm을 유지하였고, pH는 phosphoric acid solution (10 (%), v/v) 또는 ammonia water로 조절하였다. Surface aeration을 통한 공기 공급은 silicon tubing (길이 = 6.7 cm, 내부지름 = 3.1 mm)을 이용하였으며, 이를 위하여 발효조 용기 (내부지름 = 14.2 cm)의 위 뚜껑을 통하여 silicon tubing를 발효조 내부 공간으로 삽입시켰다. 교반이 일어나지 않았을 때, tubing의 끝과 배지 표면까지의 거리는 약 7 cm이며, 공기의 공급속도는 air flow meter (Cole-Parmer, USA)를 통해서 조절하였다. 그리고 산소전달 계수 (oxygen transfer rate coefficient,  $k_La$ )는 unsteady-state method로 측정하였고, 그 방법은 선행연구 논문에서 상세히 기술하였다 [15].

### 2.4. 분석방법

배지내의 잔여 총환원당 함량은 dinitrosalicylic acid (DNS) 방법을 사용하여 측정하였으며 [13], 배양액 중의 에탄올 함량은 gas chromatography (8610C, SRI, USA)를 이용하여 분석하였다. 이때 컬럼은 Chromosomb 101 [L = 6 ft, ID = 1/8 inch, 80/100 mesh, stainless steel tubing (Alltech, USA)]을 사용하였고, 자세한 운전 조건은 선행 논문에서 설명하였다 [8-10]. 당당류의 양은 thin-layer chromatography (TLC)를 이용하여 분석하였으며, TLC Plate (Partisil® K5F, Whatman)는 20 × 10 cm로 잘라서 사용하였고, 시료는 1 µL를 loading 하였으며, 전개용매는 acetonitrile과 증류수를 85 : 15 비율로 혼합하여 사용하였다. 전개가 끝난 후, TLC plate를 발색시약 (0.5 %  $\alpha$ -naphthol, 5 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in ethanol)에 담갔다 꺼낸 후, dry oven에 넣고 80°C에서 15분간 말려서 발색시켰다. Glucose, isomaltodextrin와 maltodextrin이 TLC plate 상에서 나타내는 spot의 강도와 그들 농도와의 관계가 선형적으로 비례하였다는 Robyt와 Mukerjea의 논문 [14]에서의 이론을 근간으로 glucose와 xylose의 양은 TLC를 통하여 정량분석 하였으며, 이 때 당당류의 정량 분석을 위해서 당당류의 spot을 AlphaEase FC software (Alpha Innotech, USA)를 이용하여 일차원상의 peak로 전환한 후, 농도를 알고 있는 표준물질과 비교하여 당당류의 함량을 계산하였다.

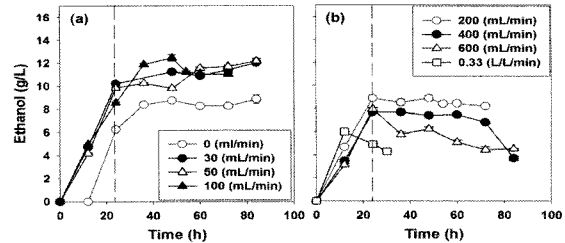
## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. Surface aeration rate이 bioethanol 생산에 미치는 영향

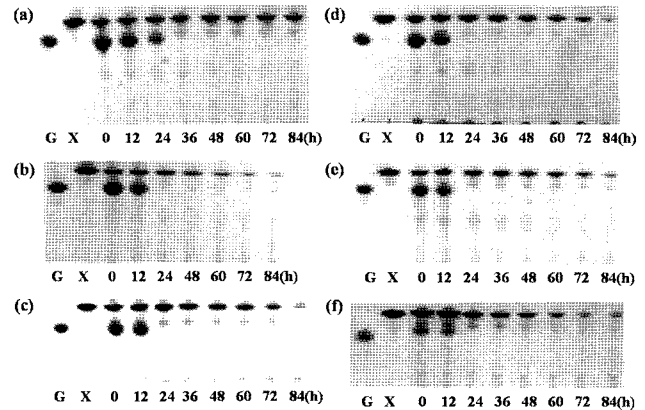
본 연구팀의 선행연구에서 모자반 가수분해물의 glucose (65.5 (%), wt), xylose (19.4 (%), wt), fructose (7.4 (%), wt) 그리고 mannose (2.8 (%), wt)가 주요 당당류 성분임을 밝혔다 [10]. 그리고 그에 대한 repeated-batch 배양을 통한 bioethanol 생산 연구를 수행하였으나, 최적의 surface aeration rate을 찾는 실험을 수행하지는 못하였다. 그래서 Fig. 1과 같이 *P. stipitis*를 이용하여 다양한 surface aeration rate에서 모자반 가수분해물로부터 bioethanol을 생산하는 연구

를 수행하였다. Fig. 1(a)의 경우는 surface aeration rate을 880 mL의 배양부피에서 전혀 공기를 넣지 않은 경우에서 부터 100 mL/min의 surface aeration rate까지의 조건에서 bioethanol 생산을 수행한 경우이고, Fig. 1(b)는 200 mL/min 이상의 surface aeration rate 조건에서 bioethanol을 생산한 경우이다. Fig. 1(a)과 Fig. 2의 결과는 이러한 surface aeration 조건에서 surface aeration을 전혀 수행하지 않은 경우를 제외하고는 배양시간 24시간 까지 glucose를 완전히 소비하고, 이후에 xylose를 소비하면서 계속적으로 bioethanol을 생산하여 bioethanol이 약 10-12 g/L까지 도달할 수 있다는 것을 보여주고 있다. 반면에 Fig. 1(b)와 Fig. 2의 결과는 surface aeration rate이 200 mL/min에서부터 600 mL/min까지 증가하는 조건에서 glucose를 이용하여 bioethanol을 24시간 전까지 어느 정도 생산하나, 24시간 이후에는 xylose를 소비하면서 bioethanol을 더 이상 생산하지 못함을 보여주고 있다. 게다가 24시간 이후에는 점점 생산된 bioethanol이 소비되어 감소되는 현상을 보여주고 있다 (Fig. 1(b), Fig. 2). 한편, Fig. 1(a)에서와 같이 surface aeration을 통하여 전혀 공기를 공급하지 않은 경우에는 어느 정도의 bioethanol이 생성되었으나 glucose의 소비속도도 상대적으로 늦었으며, glucose 소비 후 xylose를 이용한 bioethanol의 생산도 전혀 이루어지지 않았다. Fig. 1의 실험에서 대조실험으로 공기를 air sparger로 0.33 vvm 첨가하는 배양을 실시 하였다 (Fig. 1(b)). 그 결과 빠르게 bioethanol이 증가하나, 급속히 ethanol이 소비되며 감소하는 현상을 볼 수 있었다. 본 실험에서 세포의 성장을 optical density 600 nm (OD<sub>600</sub>)에서 측정 하였으며, 최고 약 10-12 정도까지 성장 하였다. 이러한 성장은 surface aeration rate과 무관하게 모든 조건에서 유사하였으며, 본 연구팀의 선행연구와도 유사 하였다 [8,10]. 이와 같은 세포 성장 결과를 Fig. 1을 비롯한 다른 연구 결과에 표시하지 않은 것은 모자반 가수분해물이 탁하고 색이 짙기 때문에 OD<sub>600</sub> 측정 시 편차가 심하고 침전물로 인한 측정의 부정확성 때문이다. 본 연구에서 수행한 surface aeration rate을 산소전달계수 ( $k_{La}$ )로 환산하기 위하여 Fig. 3와 같이 본 배양 시스템에서 발효조에 물을 채워 넣고 surface aeration rate 변화에 따른  $k_{La}$ 를 측정하여 보았다. 본 연구에서 사용한 제일 큰 값의 surface aeration rate인 600 mL/min의 surface aeration에서의  $k_{La}$ 는 air sparger를 통하여 0.33 vvm의 공기를 넣었을 경우의  $k_{La}$ 과 비교하면 약 55% 수준이었다. 선행연구에서 0.33 vvm의 공기를 air sparger로 공급하는 것이 shaking flask culture 수준의 공기 공급임을 밝혔다 [15]. 그러므로 본 연구에서 수행한 surface aeration은 shaking flask culture의 약 1/2 수준 이하의 공기 공급 정도라고 할 수 있다. 그런데 *P. stipitis*를 이용한 모자반 가수분해물로부터의 bioethanol을 생산할 경우에도 xylose를 산화적인 대사로 완전히 이용하는 공기 공급조건과 그렇지 않고 xylose를 이용하여 ethanol을 어느 정도 생산하는 공기 공급조건이 구별되어 존재함을 알 수 있었다 (Fig. 1). 본 연구 결과로부터 얻어진 최적의 surface aeration rate은  $k_{La}$ 로 표시하면, 약 0.05 (1/min) 이하 인 것으로 확인 되었으며, 이때 공기를 완전히 넣지 않으면, xylose의 이용이 이루어지지 않는다는

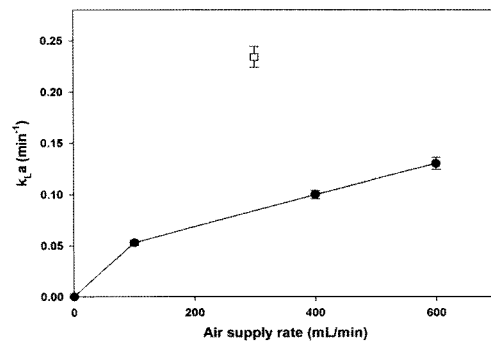
것도 확인 할 수 있었다. 본 실험의 결과를 다른 부피의 배양 시스템에 적용할 때는  $k_{La}$ 를 기준으로 적용 가능할 것으로 사료되며, 다음에 수행한 repeated-batch 배양에서는 이를 다시 확인하기 위하여 880 mL의 배양부피에 30, 100, 600 mL/min의 공기를 surface aeration 방법으로 첨가하여 bioethanol 생산 성능을 비교 분석하였다.



**Fig. 1.** Effect of the surface aeration rate on bioethanol production using the hydrolysate of *Sargassum sagamianum*. (a) Surface aeration rate was controlled at 0, 30, 50, and 100 (mL/min), and (b) 200, 400, and 600 (mL/min). In panel (b), the aeration was particularly carried out through air sparger at 0.33 (vvm, L/L/min) (□). The vertical dashed line indicates the elapsed time of 24 h. All measurements were performed three times (n=3) using the same sample, and the average and standard deviation were calculated.



**Fig. 2.** TLCs of the culture supernatants from Fig. 1. Surface aeration rates were (a) 0, (b) 30, (c) 50, (d) 100, (e) 400, and (f) 600 (mL/min). G and X indicate glucose and xylose, respectively, as the standard.



**Fig. 3.** The oxygen transfer rate coefficient ( $k_{La}$ ) when surface aeration (●) and sparger aeration (□) were carried out. Data of sparger aeration was come from our previous work [15]. The measurement of  $k_{La}$  when surface aeration was carried out was performed three times (n=3), and the average and standard deviation were calculated.

### 3.2. Repeated-batch 운전을 통한 bioethanol 생산

위의 연구 결과로부터 30, 50, 100 mL/min의 공기를 surface aeration 방법을 이용하여 880 mL의 배양액에 공급하였을 경우 xylose로부터 bioethanol 생산이 증가함을 알 수 있었다 (Fig. 1(a)). 본 실험에서는 이를 repeated-batch 배양 공정에 적용하여 실제로 *P. stipitis*가 모자반 가수분해물로부터 bioethanol을 생산 할 때에도 그러한 결과를 얻을 수 있는지를 조사하였다 (Fig. 4). 이 때 batch-type 운전을 3회 반복하여 수행하였고, 30, 100, 600 mL/min의 surface aeration rate을 선택하여 bioethanol 생산 성능을 비교하였다. 한편, 이미 언급한 것과 같이 모자반 가수분해물의 단당류는 glucose, xylose, fructose, mannose로 이루어져 있으나, glucose와 xylose가 84.9 (% wt)을 차지하기 때문에 주로 glucose와 xylose의 소비양상을 관찰하였고, 동시에 전체 환원당 함량의 변화도 관찰하였다. Fig. 4(a)-(f)에서와 같이 환원당 소비와 glucose, xylose의 소비패턴은 surface aeration rate과 관계없이 매우 유사하게 관찰되었다. 이 때 30과 100 mL/min의

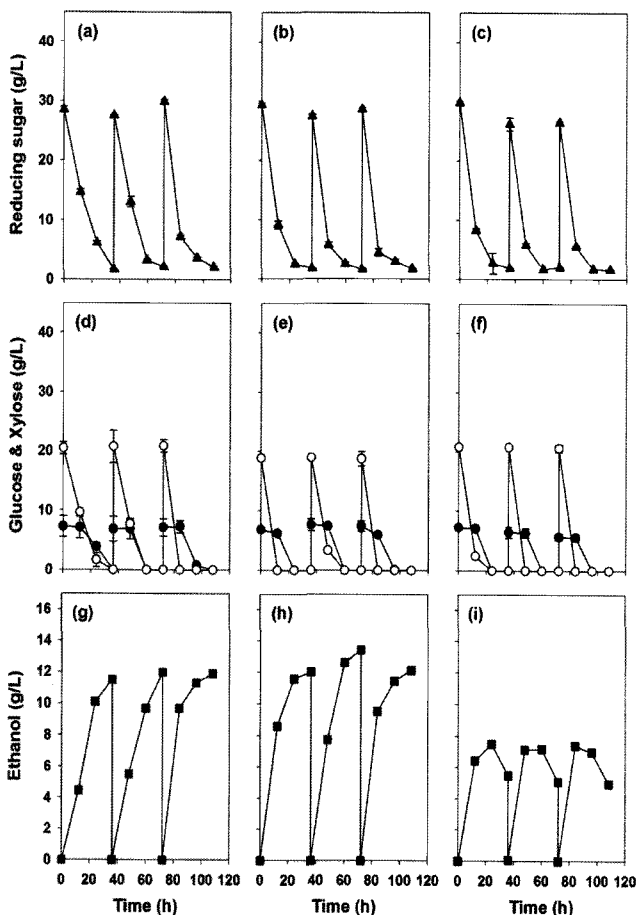
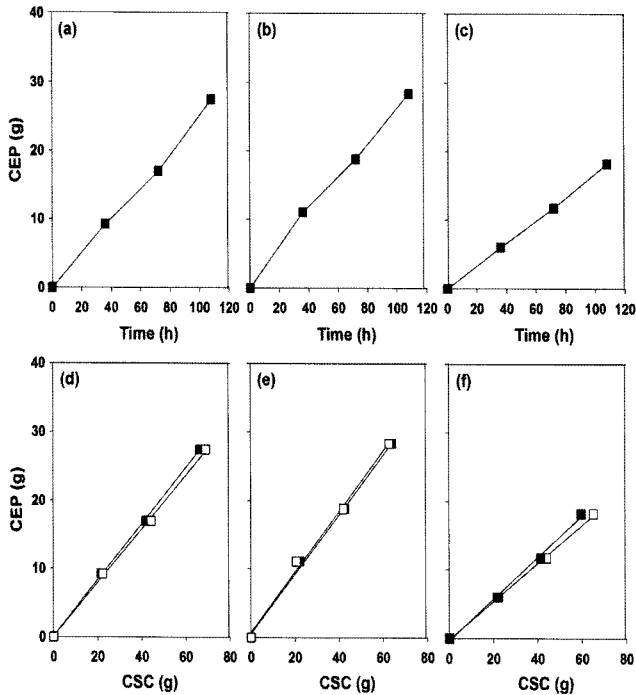


Fig. 4. Repeated-batch fermentor culture using a surface-aerated fermentor for bioethanol production. The medium was replaced every 36 h, and air was supplied into headspace of fermentor at rates of (a)(d)(g) 30, (b)(e)(h) 100, and (c)(f)(i) 600 (mL/min). (a)(b)(c) Reducing sugar, (d)(e)(f) glucose (○) and xylose (●), (g)(h)(i); ethanol concentration in culture supernatant. All measurements were performed three times (n=3) using the same sample, and the average and standard deviation were calculated.

surface aeration에서는 bioethanol 생산 양상은 서로 유사하였으며 약 12-13 g/L까지 도달하였다 (Fig. 4 (g)(h)). 한편, 600 mL/min의 surface aeration을 수행하였을 경우에는 bioethanol이 30과 100 mL/min의 surface aeration 때 보다 약 60% 정도 감소되어 생산되는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4(i)). 이러한 결과는 30과 100 mL/min의 surface aeration rate이 최적화된 surface aeration rate임을 확인 하는 결과이며, 600 mL/min의 surface aeration의 경우는 Fig. 1에서 수행한 결과와 마찬가지로, 너무 지나친 공기의 공급으로 인하여 *P. stipitis*가 xylose로부터 ethanol을 생산하지 못하고 오히려 xylose를 산화적으로 소비하기 때문인 것으로 사료된다.

이러한 repeated-batch 배양을 통한 *P. stipitis*의 bioethanol 생산 시의 bioethanol 생산 성능을 분석하기 위하여 누적 에탄올 생산량 (cumulative ethanol production, CEP)과 누적 당소비량 (cumulative sugar consumption, CSC)을 계산하였다 (Fig. 5). 이를 통하여 다시 한번 최적 surface aeration rate이 bioethanol 생산에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과 Fig. 5(a)(b)(c)와 같이 모든 경우에 있어서 시간에 따라서 CEP는 계속 증가하는 양상을 보였으나, 30과 100 mL/min에 비하여 600 mL/min의 surface aeration을 수행하였을 경우에 상대적으로 CEP 증가가 완만한 것을 알 수 있었다. 또한 CEP와 CSC의 관계를 Fig. 5(d)(e)(f)에서 분석하여 보았을 경우, CSC의 증가에 따라서 CEP가 함께 증가하는 양상을 보였으나, 마찬가지로 30과 100 mL/min에 비하여 600 mL/min의 surface aeration을 수행하였을 경우에 상대적으로 CSC에 대하여 CEP의 증가가 보다 완만한 것을 관찰할 수 있었다. 이는 30과 100 mL/min의 surface aeration rate이 600 mL/min 보다 모자반 가수분해물에서 계속적으로 bioethanol을 생산하기에 적합한 공기공급 조건이라는 것을 보여주는 결과라고 하겠다. 이때, Fig. 5(d)(e)(f)의 기울기는 당에 대한 bioethanol 수율을 의미하는데, 이를 통하여 bioethanol 수율을 계산하여본 결과는 공기를 30 mL/min으로 공급하였을 경우에는 약 0.40 (이론치의 78.4%), 100 mL/min으로 공급하였을 경우에는 약 0.42 (이론치의 82.3%), 공기를 600 mL/min으로 공급하였을 경우에는 약 0.285 (이론치의 55.8%)의 bioethanol 수율이었다. 이 값은 당을 DNS 방법으로 환원당 기준으로 측정된 경우와 TLC로 glucose와 xylose를 정량 분석한 경우의 측정결과에서 얻은 것의 평균값이라 할 수 있겠다. Fig. 5(d)(e)(f)에서 DNS 방법과 TLC 방법으로 당을 측정된 결과가 서로 유사한 것은 모자반 가수분해물에 환원당으로 glucose, xylose mannose가 들어 있으나 이 당함량을 모두 합친 결과가 TLC로 glucose와 xylose를 분석한 결과와 큰 차이를 보이지 않음을 보여주는 결과라 할 수 있다. 이는 DNS에서 측정이 될 수 없는 fructose 그리고 TLC에서 분석이 되지 않은 mannose, fructose가 두 경우의 CSC의 계산에서 빠져 있지만, 측정결과에서는 서로 유사하다는 것을 보여 주고 있다고 할 수 있다. 그러나 선행연구 결과에서 mannose, fructose가 *P. stipitis*에 의해서 assimilation 되는 것을 확인 하였으므로 [10], 본 연구 결과에서 측정된 총당함량은 실제 보다 적게 측정되었고, 그로 인해서 bioethanol 수율도 약간은 높게 계산되었을 것으로 사료된다.



**Fig. 5.** Cumulative ethanol production (CEP) in Fig. 4. (a)(b)(c); Time-course of CEP, (d)(e)(f); CEP vs. CSC (cumulative sugar consumption). In panel (d)(e)(f), closed (■) and open square (□) indicate the data from DNS method, and quantitative TLC, respectively. The data of (a)(b)(d)(e) are quoted from our work [17]. All the data were calculated from the average values of Fig. 4.

해조류 추출물을 이용한 bioethanol 생산에 대한 보고는 microalgal biomass [17], *Saccharina latissima* [16], *Laminaria hyperborean* [18] 그리고 brown algae [19]에서 보고가 되고 있으나, 정량적인 분석과 생산공정에 개발에 관한 보고는 매우 드물다. 그리고 bioethanol 수율도 *Laminaria hyperborean* 가수분해물에서 0.18-0.43 [18] 그리고 본 연구팀의 모자반 가수분해물의 결과인 0.297-0.353 [8] 정도로 보고되고 있다. 본 연구 결과에서의 batch별 bioethanol 함량과 bioethanol 수율이 본 연구팀의 이전 연구 결과와 상이한 결과를 보이는 것은 모자반 추출 공정상의 일관성 결여와 배지 조성의 차이에서 오는 것으로 추론 되어진다 [8,10]. 또한 해조류의 특성상 구성 당성분의 다양성 그리고 불완전한 추출법 등이 각각 연구 보고상의 결과 간의 다양한 차이를 보이는 것으로 추론된다.

결론적으로 본 연구 논문에서는 surface aeration rate을 30에서 100 mL/min (880 mL 배양액 기준) 범위로 조절 하였을 때 가장 많은 bioethanol을 만들 수 있었고, 이는  $k_La$  값으로 약 0.05 (1/min) 이하의 값인 것으로 확인되었다. 그러나 공기를 전혀 넣지 않은 경우에는 xylose로부터 bioethanol을 생산 할 수 없었으며, 최적화된 surface aeration rate을 repeated-batch 운전에도 적용하여서도 bioethanol 생산 성능이 최적화됨을 확인하였다. 만약 보다 큰 부피의 배양액에서 bioethanol을 생산하기 위한 scale-up을 수행할 때는  $k_La$ 값을 기준으로 surface aeration을 수행하면 될 것으로 사료된다.

### 감사

이 연구는 한국해양연구원 (Korea Ocean Research & Development Institute)의 연구비 지원 (Project No. PP00740)에 의하여 이루어졌으며, 이에 심심한 감사를 드립니다.

### References

- Rizzi, M., P. Erleman, N. A. Bui-Thanh, and H. Dellweg (1988) Xylose fermentation by yeast. 4. Purification and kinetic studies of xylose reductase from *Pichia stipitis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 148-154.
- Rizzi, M., K. Harwart, P. Erlemann, N.-A. Bui-Thanh, and H. Dellweg (1989) Purification and properties of the NAD<sup>+</sup>-xylytol-dehydrogenase from the yeast *Pichia stipitis*. *J. Ferment. Bioeng.* 67: 20-24.
- Jeffries, T. W. (2006) Engineering yeasts for xylose metabolism. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17: 320-326.
- Ligthelm, M. E., B. A. Prior, and J. C. du Preez (1988) The oxygen requirements of yeasts for the fermentation of D-xylose and D-glucose to ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28: 63-68.
- Skoog, K. and B. Hahn-Hägerdal (1990) Effect of oxygenation on xylose fermentation by *Pichia stipitis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3389-3394.
- Grootjen, D. R. J., R. G. J. M. van der Lans, and K. Ch. A. M. Luyben (1990) Effects of the aeration rate on the fermentation of glucose and xylose by *Pichia stipitis* CBS 5773. *Enzyme Microb. Technol.* 12: 20-23.
- Watson, N. E., B. A. Prior, J. C. du Preez, and P. M. Lategan (1984) Oxygen requirements for D-xylose fermentation to ethanol and polyols by *Pachysolen tannophilus*. *Enzyme Microb. Technol.* 6: 447-450.
- Yeon, J.-H., H.-B. Seo, S.-H. Oh, W.-S. Choi, D. H. Kang, H.-Y. Lee, and K.-H. Jung (2010) Bioethanol production from hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum*. *KSBB J.* 25: 283-288.
- Yeon, J.-H., S.-E. Lee, W. Y. Choi, W.-S. Choi, I.-C. Kim, H.-Y. Lee, and K.-H. Jung (2011) Bioethanol production from the hydrolysate of rape stem in a surface-aerated fermentor. *J. Microbiol. Biotechnol.* 21: 109-114.
- Yeon, J.-H., S.-E. Lee, W. Y. Choi, D. H. Kang, H.-Y. Lee, and K.-H. Jung (2011) Repeated-batch operation of surface-aerated fermentor for bioethanol production from the hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 21: 323-331.
- Mosier, N., R. Hendrickson, N. Ho, M. Sedlak, and M. R. Ladisch (2005) Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresour. Technol.* 96: 1986-1993.
- Han, J. G., S.-H. Oh, M.-H. Jeong, S.-S. Kim, H.-B. Seo, K.-H. Jung, Y.-S. Jang, I.-C. Kim, and H.-Y. Lee (2009) Two-step high temperature pretreatment process for bioethanol production from rape stems. *KSBB J.* 24: 489-494.
- Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy (1986) *Carbohydrate analysis; A practical approach*, pp. 3. IRL Press, Oxford, UK.
- Robyt, J. F. and R. Mukerjee (1994) Separation and quantitative determination of nanogram quantities of maltodextrins and isomaltodextrins by thin-layer chromatography. *Carbohydr. Res.* 251: 187-202.
- Seo, H.-B., S. S. Kim, H.-Y. Lee, and K.-H. Jung (2009) High-level

- production of ethanol during fed-batch ethanol fermentation with a controlled aeration rate and non-sterile glucose powder feeding of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 14: 591-598.
16. Adams, J. M., J. A. Gallagher, and I. S. Donnison (2009) Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments. *J. Appl. Phycol.* 21: 569-574.
  17. Harun, R., M. K. Danquah, and G. M. Forde (2010) Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 85: 199-203.
  18. Horn, S. J., I. M. Aasen, and K. Østgaard (2000) Ethanol production from seaweed extract. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 25: 249-254.
  19. Lee, S. M., J. H. Kim, H. Y. Cho, H. Joo, and J. H. Lee (2009) Production of bioethanol from brown algae by physicochemical hydrolysis. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 20: 517-521.