

연료용 에탄올 생산을 위한 폐지의 동시당화발효 공정 최적화

심희준, 김승욱, 홍석인

고려대학교 공과대학 화학공학과

Optimization of Simultaneous Saccharification and Fermentation
Process for Ethanol Production using Waste Paper

Huijun Sim, Seung-Wook Kim, Suk-In Hong

Dept. of Chemical Eng., Korea University

1. 서론

1.1. 대체 에너지 - 연료용 에탄올

지금까지 인류의 생활을 영위하기 위해 사용되어온 에너지 자원은 주로 화석연료가 대부분이었다. 대부분의 화석연료는 석유와 석탄으로 구성되어 있으며 그 중에서 석유는 인류의 생활에 없어서는 안될 매우 중요한 에너지 자원이 되었고 여러 방면에서 사용되고 있다. 그러나 대부분의 석유 매장량은 중동지방에 집중되어 있고 매장량이 한정되어 있다. 특히 석유는 국제 정세에 의해 중동지방으로부터의 원유공급이 불확실해질 수 있고 각 지역으로 석유공급을 할 때 관련되는 비용이 높은 문제점을 가지고 있다. 또한 일반적인 교통수단의 연료로 쓰이고 있는 휘발유, 경유 등이 연소되면서 발생하는 공해물질들은 세계 각국에서 커다란 환경문제로 대두되고 있다. 이러한 석유 에너지와 관련된 문제점들을 해결하기 위해 화석연료를 대체할 수 있는 다양한 에너지 자원의 개발이 필요하게 되었고 그 중에서도 특히 섬유소계 바이오매스로부터 얻어지는 연료용 에탄올에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다^[1,2]. 섬유소계 바이오매스로부터 얻어지는 연료용 에탄올은 다음과 같은 장점을 가지고 있다^[3,4].

- 1) 에탄올 연소시 매우 적은 양의 비메탄계 유기가스(Non-methane organic gas)가 방출되고 이러한 유기가스는 지속적으로 도시의 대기환경 문제를 유발시키는 오존(Ozone) 형성에 대해 낮은 광화학적 반응성을 가지고 있다.
- 2) 가솔린 대신 에탄올 연료를 사용하면 바이오매스의 이산화탄소 사이클을 고려하지 않을 때 이산화탄소의 배출량을 12% 감소시킬 수 있으며, 바이오매스의 이산화탄소 사이클을 고려할 때 이산화탄소의 배출량을 90-100% 감소시킬 수 있다.
- 3) 에탄올 연소시 formaldehyde, benzene, 그리고 1,3-butadiene같은 유독성 물질의 방출량을 감소시킬 수 있다.
- 4) 에탄올은 자동차 연료인 가솔린에 연료 첨가제로 사용될 수 있고 10%의 에탄올과 90%의 가솔린 혼합액을 사용했을 때, engine power를 5% 향상시킬 수 있고 5 units의 옥탄가를 증가시킬 수 있으며 또한 배출가스의 일산화탄소량을 30% 감소시킬 수 있다.

결론적으로 에탄올은 액체 수송연료로서 취급이 용이하고 연소후 공기오염이 적으며 우수한 옥탄가를 갖는 등 고체 바이오매스로부터 얻어질 수 있는 에너지 중 가장 효율이 높은 형태라고 말할 수 있다. 즉 에탄올은 경제적인 측면이나 환경적인 측면에서 매우 우수한 에너지원으로 평가되어지며, 1970년대 후반에서 지금까지 연료용 에탄올을 섬유소계 바이오매스로부터 만들어내는 공정에 기술적인 관심이 높아지고 있다.

1.2. 연료용 에탄올 생산원료 - 폐지

연료용 에탄올의 생산원료가 될 수 있는 섬유소계 바이오매스는 지구상에 매우 풍부한 양으로 존재하고 있으며 또한 재생될 수 있는 자원이다. 지금까지 연료용 에탄올 생산원료로 사용되는 섬유소계 바이오매스는 크게 목질계 바이오매스, 농작물계 바이오매스, 그리고 고품 폐기물계 바이오매스로 나누어진다. 폐지는 고품 폐기물계 바이오매스로 종이는 전체의 48%, 신문지는 단독으로만 14%를 차지하고 있다^[5].

폐지의 대부분을 차지하는 신문지는 보통 5-6번 재활용될 수 있고, 그 후에는 셀룰로오스 함유가 종이를 만들기에 매우 짧고 결합력이 약해져서 폐기물로 처리되어야 한다. 최근까지 대부분의 섬유소계 고품 폐기물은 매립이나 소각에 의해 처리되어 왔고 특히 근래에 종이에 대한 수요가 폭발적으로 증가되고 있는 시점에서 파생되는 폐지의 처리가 환경적인 측면에서 큰 문제로 제기되고 있다. 기존처럼 재활용되지 못하고 폐기물로 처리되어지는 폐지를 원료로 하여 연료용 에탄올을 생산한다면 소각이나 매립에 의해 처리되어지는 폐지를 청정 연료인 에탄올로 전환시킴으로써 대체에너지원의 생산 뿐만 아니라 폐기물의 양도 줄일 수 있는 환경적 잇점을 얻을 수 있다.

2. 이론

2.1. 동시당화발효(Simultaneous Saccharification and Fermentation : SSF) mechanism

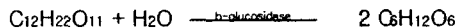
섬유소계 바이오매스로부터 연료용 에탄올을 생산하는 반응 메카니즘^[6]은 크게 두가지로 볼 수 있다.

Saccharification

Cellulose formation

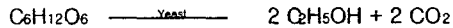


Cellulose to glucose



Fermentation

Glucose to ethanol



2.2. 동시당화발효 공정 모식도

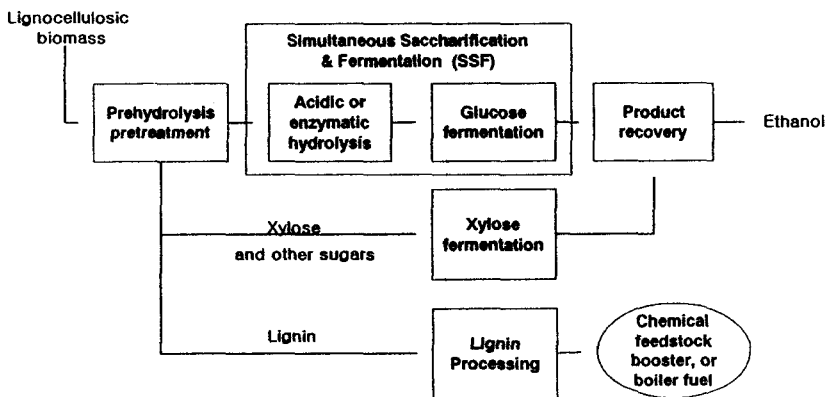


Fig. 1 Schematic diagram of SSF process

3. 실험

3.1. 재료

효소에 의한 당화반응의 기질로 이용된 폐지는 신문지(한겨레 신문)를 사용하였으며, 기질로는 ball-milling 처리한 폐지분말, 2~3 cm 정도로 shredding한 폐신문지조각(shredded paper) 그리고 해리기에 의해 처리된 폐지(dissociated paper) 슬러리가 이용되었다. 효소는 *Trichoderma reesei* 변이균주에 의해 생산된 상업용 효소인 Celluclast 1.5L (Novo Co., Denmark)와 β -glucosidase를 강화한 Novozyme-188 (Novo Co., Denmark)를 사용하였다. 에탄올 발효에 이용된 균주는 *Brettanomyces custersii* CBS 5512를 모균주로 하여 돌연변이시켜 개발된 내열성 효모균주인 *B. custersii* H1-39를 이용하였다. 성장 배지로 YPD broth(1%(w/v) yeast extract, 2%(w/v) peptone, 2%(w/v) dextrose)를 사용하였다.

3.2. 실험방법

효소를 이용한 당화반응은 500 mL Erlenmeyer flask에 기질과 pH 4.8로 조절한 0.5 M citrate buffer 용액을 100 mL의 슬러리로 만들어 진탕배양기에서 수행하였다. 반응도중 5 mL씩 시료를 채취하여 5분간 100°C 항온수조상에서 효소를 불활성화시킨 후 원심분리하여 얻은 여과액을 분석하였다. 이때 진탕배양기의 회전속도는 250 rpm이었으며 온도는 40°C이었다. 폐지의 동시당화발효는 500 mL Erlenmeyer flask에 기질과 citrate buffer용액을 넣고 활성화된 6 g/L 농도의 균체를 10%(v/v)로 접종한 후 효소를 첨가하여 수행하였다. 이때 최종 부피는 100 mL이었고 진탕배양기의 조건은 당화반응과 동일하였다. 반응기(한국발효기) 실험의 경우 5 L 반응기는 조업부피 2 L로 조업하였다.

3.3. 분석방법

당화액 속의 포도당 농도는 포도당 측정용 시약(영동제약)을 이용해 GOD-POD 효소법으로 0.02 ml의 반응액에 포도당 산화효소 3 mL를 첨가하여 37°C에서 18분간 반응시킨 다음 곧바로 냉각시켜 505 nm에서의 흡광도로부터 포도당 농도를 결정하였으며, 환원당 농도는 DNS방법에 의해서 측정하였다. 발효액 중의 에탄올 농도는 불꽃 이온 검출기(Flame Ionization Detector)가 장착되어있는 가스크로마토그래피(영린기기)를 이용하여 분석하였다. Column은 Porapak Q(80/100mesh)가 충전된 column(SUPELCO)을 사용하였고 내부표준물질로는 1% Isopropanol을 사용하였다.

4. 결론

4.1. 생산 배지의 결정

Table. 1은 값비싼 생산배지인 YPD를 저렴한 CSL(corn steep liquor)로 대체하기 위해서 CSL 농도의 최적화를 수행한 결과를 나타낸 것이다. 최적 CSL 농도는 2%(v/v)로 결정되었다.

4.2. 교반기 유형의 결정

Fig. 2와 Fig. 3은 불용성 기질인 폐지를 원활하게 혼합시켜줄 수 있는 교반기로 디스크-터빈 교반기와 헬리컬-리본 교반기에 대해 유가식 SSF시 교반속도의 변화와 에탄올 생산성을 비교한 것이다. 유가식 배양시 고농도의 기질의 혼합에 적합한 교반기는 교반속도의 회복이 빠르며 높은 에탄올 생산성을 보이는 헬리컬-리본 교반기로 결정되었다.

4.3. 당화온도 전이시간의 결정

Table. 2는 동시당화발효의 최대 문제점인 당화와 발효온도의 불일치를 최소화하기

위해서 효소당화의 최적온도인 50℃에서 당화수행 후, 발효온도인 40℃로 전환하는 비등은 SSF 수행시 온도전이시간 결정에 대해 나타낸 것이다. 최적의 온도 전이시간은 5 hr으로 결정되었다.

5. 감사

본 연구는 한국에너지기술연구소의 연구비 지원으로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

6. 참고문헌

1. Vinzant, T. B., Ponfick, L., Nagle, N. J., Ehrman, C. I., Reynolds, J. B. and Himmel, M. E.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 45/46, 611-626 (1994).
2. Nguyen, Q. A., Dickow, J. H., Duff, B. W., Farmer, J. D., Glassner, D. A., Ibsen, K. N., Ruth, M. F., Schell, D. J., Thompson, I. B. and Tucker, M. P.: *Bioresource Technol.*, 58, 189-196 (1996).
3. Chang, T. Y., Hammerle, R. H., Japar, S. M. and Salmeen, I. T.: *Environ. Sci. Technol.*, 25, 1190-1197 (1991).
4. Palmer, F. H.: 'Vehicle performance of gasoline containing oxygenates', Institution of Mechanical Engineers Conference Publications, MEP, London, U.K., 33-46 (1986).
5. Scott, C. D., Davison, B. H., Scott, T. C., Woodward, J., Dees, C. and Rothrock, D. S.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 45/46, 641-653 (1994).
6. Kwon, J. K., Moon, H. S., Kim, J. S., Kim, S. W., and Hong, S. I., Fed-batch simultaneous saccharification and fermentation of waste paper to ethanol, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 14, 24-30 (1999).

Table 1. Optimization of CSL concentration.

Medium composition	Maximum ethanol concentration (g/L)	^c Ethanol production yield based on Corn steep liquor (g/L /mL)
^a YP broth	6.117	-
^b CSL 1%	6.296	0.179
CSL 2%	6.608	0.246
CSL 3%	6.829	0.237
CSL 4%	6.867	0.188
CSL 5%	7.080	0.193

a) YP broth consisted of 1%(w/v) yeast extract, 2%((w/v) peptone with Na-citrate buffer solution.

b) CSL(corn steep liquor) was added as a volume ratio(v/v).

c) $\frac{\text{maximum ethanol concentration} - 6.117}{\text{corn steep liquor concentration}}$

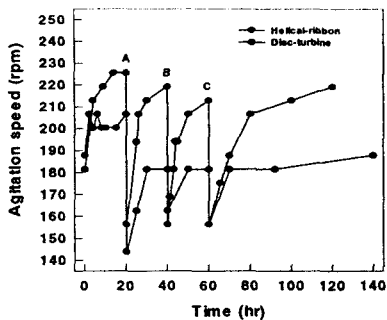


Fig. 2 Effect of impeller types on agitation speed in the 5 L bioreactor at 40°C, 250 rpm. Initial substrate concentration : 6% (w/v) dissociated paper (A, B, C : addition of 4% (w/v) dissociated substrate)

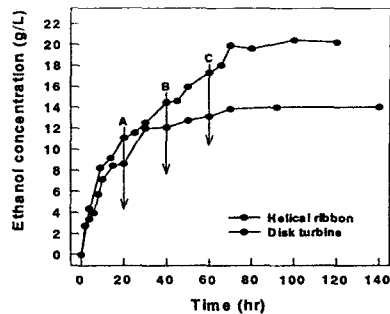


Fig. 3 Effect of impeller types on ethanol production in fed-batch SSF using 5 L vessel at 40°C, 250 rpm. Initial substrate concentration : 6% (w/v) dissociated paper, enzyme loading : $E_1=30$ FPU/g cellulose, $E_2=1330$ IU/L (A, B, C : addition of 4% (w/v) dissociated paper)

Table 2. Non-isothermal enzymatic hydrolysis data

	*Temperature shift time	Final glucose concentration (g/L)	
		4% (w/v) ball-milled	8% (w/v) ball-milled
40°C	-	5.34	10.25
50 → 40°C	3 hrs	6.00	10.78
50 → 40°C	5 hrs	6.02	11.13
50 → 40°C	7 hrs	5.57	10.64
50 → 40°C	9 hrs	5.63	10.76
50°C	-	6.24	11.30

*Temperature was shifted at given time