

*Propionibacterium acidipropionici*를 이용한 유기산의 대량생산공정과 선별적 농축에 관한 연구

김대식, 최철호*, 이영무**, 이의상***

관동대학교 환경공학과*, 한양대학교 공업화학과**, 상명대학교 환경공학과***

전화(033)670-3357, FAX (033)670-3369

Abstract

Organic acids which were produced from biomass wastes streams by cell-recycle fermentation using *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 were extracted by Membrane Contactor using TOA/MIBK system. Maximum productivity was 3.32g organic acid/L/hr at the dilution rate of 0.2/hr in the results of continuous fermentation. The diluted organic acids in the fermenter were selectively separated by Membrane Contactor extraction using 30%(w/w) trioctylamine(TOA) dissolved in methylisobutylketone(MIBK). The flow rate of aqueous phase is 200ml/min and that of extraction phase is 100ml/min. The degree of Acetic acid and Propionic acid extraction from fermentation broth was reached 56.25%, 72.41% respectively.

서 론

유기산은 대체로 방부제, 제초제, 방향제등에 사용되며, 특히 프로피온산은 곰팡이 생성을 저해하여 빵, 치즈, 초콜릿등에 사용되는데 많은 수요가 있다. 이들 합성 유기산은 석유등의 정제과정에서 분리된 올레핀 가스를 원료로 하여 제조하고 있으므로, 가격이 비쌀 뿐 아니라 그 많은 수요를 조달하기에는 충분치 않은 실정이다. 화석연료의 대체를 위해 생물량을 이용한 발효를 통해 유기산을 생산하는 연구가 활발히 이루어지고 있으며 특히, 최근에 CMA(Calcium Magnesium Acetate)나 CMP(Propionate)라는 화학물질이 새로운 저공해 제설제로서 그 수요가 증가하고 있다¹⁾. 이들 제설제는 80 ~ 85%(w/w)의 유기산비율을 가지고 있으므로 제설제에 사용되는 유기산을 화석연료대신 biomass를 이용한 미생물 발효를 통해 생산함으로써 생산비용을 줄일 수 있다. 이러한 유기산의 생산을 위해 *Propionibacterium acidipropionici* ATCC4875를 이용한 세포순환식 연속발효를 실시하여 유기산을 대량 생산함과 동시에, Membrane Contactor²⁾을 통해 발효조내의 희석상태(보통 2-3%w/w)의 유기산(Acetic와 Propionic acid)을 선별적으로 분리 · 농축하였다. Membrane Contactor은 유기산간의 분배계수의 차이를 이용한 방법으로 Membrane pore를 통해 수용액상에 존재하는 유기산을 추출제와 complex를 형성하여 유기 용매로 추출하여 분리해내는 공정이다. 본 실험에서는 Membrane Contactor의 수용액

상 유속 200ml/min, 추출상 유속 100ml/min에서 발효조내의 아세트산과 프로피온산을 각각 56.25%, 72.41%를 추출하였다. 본 연구의 목적은 유기산의 대량생산과 선별적으로 농축하는데 있다.

재료 및 방법

시료 및 전처리

사용된 유기산 균주는 *Propionibacterium acidipropionici* ATCC4965, 4875, 25562며 회분식 발효를 통해 선정된 균주는 ATCC 4965였다. 배지로는 Corn steep liquor(CSL), Hydrol을 업체로부터 공급받아 사용하였다. 분석 결과 CSL의 고형물 함량은 50%, Hydrol의 당 함유량은 68%로 나타났다.

세포 재순환식 연속발효

연속발효에서는 hydrol 3%, CSL 2.5%를 혼합하여 배지로 사용하였고, pH6.0, 30℃로 시작하여 약 80hr이후부터 희석률 0.1/h로 연속 발효를 실시하였다. 연속발효장치는 Quixstand benchtop system에 고정시킨 공극 0.1 μ m의 UF Module(SAM-BO gloval)과 맥동펌프(Watson Marlow 313)를 이용하여, 세포를 재순환시키고, 발효액만을 분리하여 유기산 추출에 사용하였다.

Membrane Contactor을 이용한 추출

추출 용매로 o-xylene, m-xylene p-xylene, n-butyl acetate, methyl isobutyl ketone, chloroform 과 추출제로 선정한 octylamine, dioctylamine, trioctylamine과 trioctyl-methyl-ammonium-chlorid 을 사용하였으며, 순수유기산의 추출력은 Acetic acid 1%와 Propionic acid 2%의 혼합용액과 추출상을 동일 부피로하여 액-액 추출을 실시하여 최적 조건을 Membrane Contactor에 적용하였다. Membrane Contactor에서는 수용액상의 유속과 추출상의 유속에 대한 추출력 및 접촉부피비에 따른 추출력을 평가하였다.

결과 및 고찰

세포재순환식 연속 발효

ATCC4965를 이용한 연속 발효 결과를 Table 1에 나타난 것 처럼 희석율(D) 0.2/hr 일때의 발효 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 희석률 0.1/hr에서 동일조성의 경우, 회분식발효보다 세포 생산량은 약 10배정도, 유기산 생산성도 약 8배정도 높게 나타났다. 또한 희석율 0.2/hr 일때 0.1/hr에서 보다 최대 세포생산량의 경우 2.34배, 유기산 생산성은 1.39배 높았다.

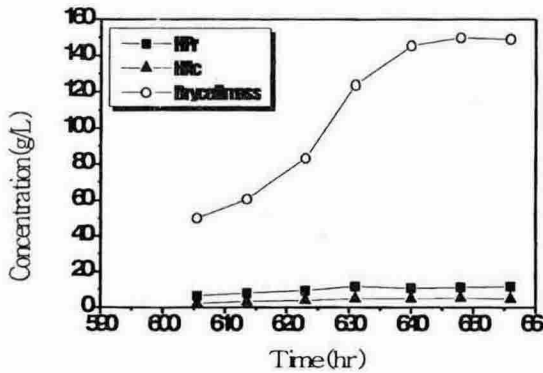


Figure. 1. Cell-recycling fermentation of food by-products using ATCC 4965. (Sugar: Hydrol 3%, pH6, 30°C, D=0.2/hr)

Table 1. Performance comparisons of cell-recycling fermentation

| | Dilution Rate(D, 1/hr) | | |
|--|------------------------|------|------|
| | 0.1 | 0.15 | 0.2 |
| Maximum cell Yield (g drycellmass/L) | 64.1 | 74.1 | 150 |
| Product Yield (g organic acid/g glucose) | 0.79 | 0.58 | 0.55 |
| Maximum Productivity (g organic acid/L/hr) | 2.38 | 2.59 | 3.32 |

Membrane Contactor를 이용한 추출 및 농축

액-액 추출에서 결정된 30w/w%TOA/MIBK를 추출상으로 하고, Flow 방향에 대한 추출력의 비교를 Fig.2에 나타내었고, 수용액상과 추출상의 접촉부피비에 대한 결과를 Fig.3과 Fig.4에 나타내었다. Flow 방향에 대한 추출력은 Counter-current일 때 다소 높은 추출력 (HAc 71.16%, HPr 87.81%)을 나타내었고, 접촉부피비에 대한 평가에서는 수용액 : 추출상의 비가 2:1일 경우에도 1:1과 거의 비슷한 추출력(HAc 57.34%, HPr 82.57%)을 보였으나, 3:1의 비율에서는 다소 낮아진 결과를 보였다. 실제 발효액을 수용액상으로 한 추출실험은 동일 부피비로 실험한 결과를 Fig.5에 나타내었다. 실험 결과 추출시작 2시간후 쯤 평형상태에 도달하였고, Acetic acid(HAc)는 56.25%, Propionic acid(HPr)는 72.41%의 추출력을 얻었다.

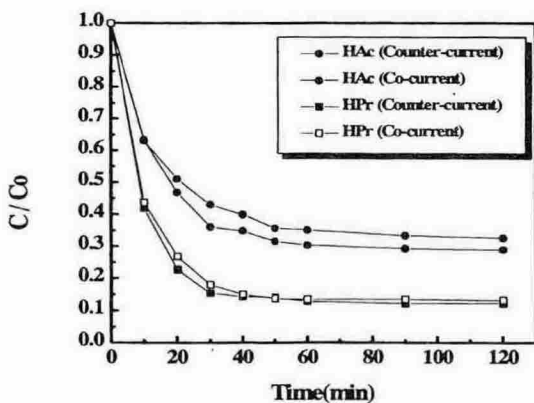


Fig.2 Effect of Flow direction

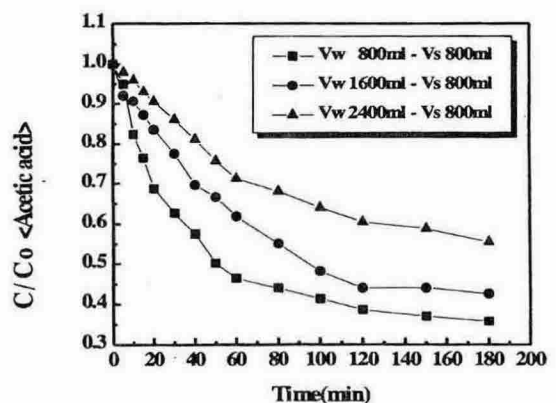


Fig. 3 Effect of Volume Rate

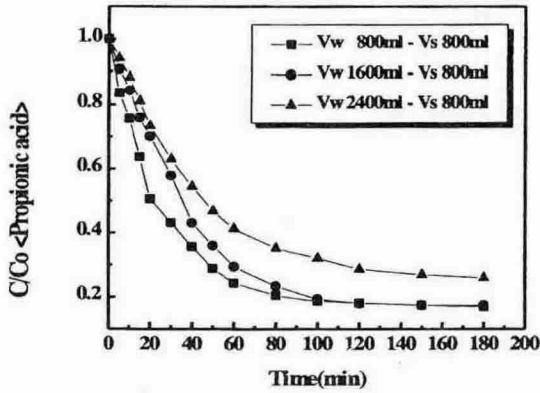


Fig. 4 Effect of Volume Rate

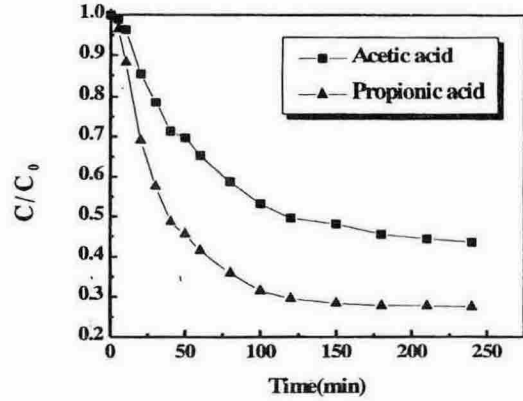


Fig. 5 Membrane Extraction from Fermentation solution

요 약

회분식 발효를 실시하여 균주의 최적 발효조건을 구하여 세포 재순환식 연속 발효 공정에 적용한 결과, CSL의 최적 함량은 2.5%로 나타났으며, 수율과 생산성은 각각 0.80g total acid/g glucose, 0.26g total acid/L/h이었다. 연속 발효 결과, 최대 생산물 생산성은 희석률 0.2/h에서 3.32g organic acid/L/h을 얻었다. 최적 추출시스템은 30%w/w TOA/MIBK로 나타났으며, Membrane Contactor을 이용한 추출에서는 수용액상의 200ml/min, 추출상은 100ml/min의 유량을 갖는 Counter-current가 최적 조건임을 확인했고, 또한 수용액상과 추출상의 접촉 부피비는 2:1이 여러 가지 요인을 고려했을 때 최적 조건임을 확인했다. 실제 발효를 통해 생성된 유기산의 추출은 1:1의 부피비로 counter-current로 접촉시켰을 때 Acetic acid 가 56% Propionic acid가 72.41%의 추출력을 얻을 수 있었다.

참고문헌

- 1) Dunn, S. A. and R. V. Schenk, "Alternative Highway Deicing Chemicals", Bjorksten Research Corp., Report No. FHWA/RD-79/108, March, (1980)
- 2) Mulder, M. Basic Principle of Membrane Technology, p. 375-380, 2nd edition, Kluwer Academic Publishers, (1996)