

혐기성 박테리아균인 *Zymomonas mobilis*을 이용한 알코올 발효와 투과증발법을 이용한 알코올의 분리 농축에 관한 연구

조병주 · 최철호* · 이영무** · 이의상***

관동대학교 환경공학과* · 한양대학교 공업화학과** · 상명대학교 환경공학과***

전화 (033) 670-3357, FAX (033) 670-3369

Abstract

Ethanol fermentation of glucose by a strain of *Zymomonas mobilis* KCTC 1535 was studied in membrane recycle bioreactor, which was coupled with cross flow hollow fiber membrane. The maximum values of product yields and productivity are 0.4685g total ethanol/ g glucose, 14.05g total ethanol/ L/h, respectively.

The pervaporation performance of the PDMS membrane has been investigated for the separation of binary mixtures of EtOH/water at 50°C~70°C. The optimum conditions of feed concentration, temperature, feed solution flow rates is determined to be 8%, 70°C, 492ml/min, respectively. An ethanol permselectivity of 7.5 and flux of 0.04kg/m²/hr were obtained with these membrane

서 론

현재 사용되고 있는 에너지원으로는 대부분 화석 연료에 의존하고 있다. 그러나 석유 및 석탄 같은 화석연료는 연소 시 발생하는 대기 오염 문제로 인하여 전 세계적으로 사용에 대한 규제가 강화되고 있다. 특히 한국에서는 IMF구제 금융 시대 이후 석유 원료의 가격이 상승하여 난방용 에너지와 산업적 에너지원으로 사용을 위한 수급에 어려움을 겪고 있다. 따라서 석유의 대체 에너지원으로 물리적 화학적 특성이 유사한 알코올에 대한 연구가 활발히 진행되어지고 있다. 여러 선진국에서는 자동차 연료용으로 에탄올이 함유된 연료(gasohol)을 개발하기 위한 연구가 진행되고 있으며 발효 에탄올을 에틸렌 및 다른 석유 화학제품을 생산하는데 이용하기도 한다.¹⁾

알코올 발효 시 생성물에서 알코올만을 선택적으로 분리하기 위하여 증류법을 가장 많이 사용하고 있으나 소규모 처리에는 투과증발법을 이용하는 것이 유리하다.²⁾ 또한 투과 증발은 에너지가 적게 드는 막 분리 공정의 장점을 이용하므로 경제성이 좋은 대체 연료를 개발할 수 있다.³⁾ 따라서 본 연구에서는 혐기성 박테리아 균인 *Zymomonas mobilis*을 이용하여 세포 재 순환식 연속 발효로 에탄올의 생산성을 향상시키고 투과증발법을 이용하여 발효조에 회석된 에탄올을 선별적으로 분리 농축하는 데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

본 연구에서 사용한 혐기성 균주는 *Zymomonas mobilis* KCTC 1535(생명공학연구소)이며 제조된 인공배지는 Autoclave에 넣어 121°C에서 15분간 고압멸균 하였다.

Fermenter에 조제배지 1L를 초기조건인 pH7.0, 온도 30℃, 교반속도 50rpm으로 조절한 후 실험에 실시하였다. 발효기간 중 환경제어를 위하여 질소가스를 간헐적으로 공급하였다.

또한 인공배지의 회분식 실험 통해 선정된 최적 당농도를 천연배지조제에 적용하였으며 단백질 원과 비타민원으로 사용된 액상 C.S.L의 최적 조건을 선정하기 위하여 0.4, 0.8, 1.2, 1.4 %(w/v)의 농도로 250ml의 삼각플라스크에 채운 후 Uni Thermo Shaker(EYELA NTS-1300)에서 30℃를 유지하여 배양하였다.

천연배지를 이용한 연속발효 실험은 pH7.0, 30℃, 50rpm으로 시작하여 48시간 이후부터 회석을 0.3hr⁻¹로 실시하였다. 사용된 세포 재순환막은 공극 0.1μm의 UF Module (SAM-BOglove)를 사용하여 발효액만 분리하여 사용하였다.

본 연구에 사용된 분리막은 소수성 분리막인 PERVAP®1070(SULZER CHEMTECH, GERMANY)을 사용하였으며 이 막은 지지체인 폴리실론 한외여과막 위에 실리콘 고분자 용액인 PDMS (Poly dimethyl siloxane)용액층을 60℃에서 48시간 동안 건조하고 UV와 γ-ray로 조사하여 코팅한 비대칭 막이며 자체 제작한 투과증발기기를 사용하여 50, 60, 70℃에서 에탄올의 분리 농축을 실시하여 최적의 선택 투과성을 갖는 최적의 온도를 선정하였다.

에탄올 분석은 0.45μm인 membrane filter로 여과한 후 HPLC Syringe Loading Sample Injector를 사용하여 에탄올 성분을 분리하고 RI Detector(RI-930, JASCO)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

인공배지의 회분식 실험에서 glucose의 농도를 6, 8, 10, 12, 14%로 하여 실험을 실시한 결과 미생물의 대수성장기에서 각 구간의 세포농도를 미분하여 구한 최적의 세포 비성장속도(μ)는 glucose가 10%일 때 최적조건을 나타냈으며 EtOH농도는 6.8%(W/V)를 나타내었으며 세포와 생산물 생산성 계수인 $Y_{x/s}$, $Y_{p/s}$ 는 각각 0.0874g cell/g glucose, 0.684g EtOH/g glucose를 나타내었다. (Table. 1)

Table 1. The Parameters from Kinetics Study of the Batch Fermentation (pH 7.0)

glucose [g/L]	EtOH [g/L]	Biomass [g/L]	μ	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	Maximum Productivity [g EtOH/L/h]
140	87.718	8.16	0.309	0.058	0.627	2.506
120	70.360	6.66	0.253	0.056	0.586	2.426
100	68.383	8.74	0.377	0.087	0.684	2.849
80	48.685	6.73	0.447	0.084	0.608	1.390
60	37.342	5.17	0.357	0.086	0.622	0.910

또한 비 성장속도(μ)는 0.377 1/hr 이며 EtOH의 최대 생산성은 2.849 g/l/h를 나타내었다. 천연배지 조제 전 단백질 원과 비타민원으로 사용된 액상 C.S.L의 최적 조건을 선정하기 위하여 0.4, 0.8, 1.2, 1.4 %(w/v)의 농도로 실험하였을 때 C.S.L의 농도 1.2%일 때 ethanol과 Biomass의 생산성이 최적의 조건을 나타냈다. (Fig. 1.)

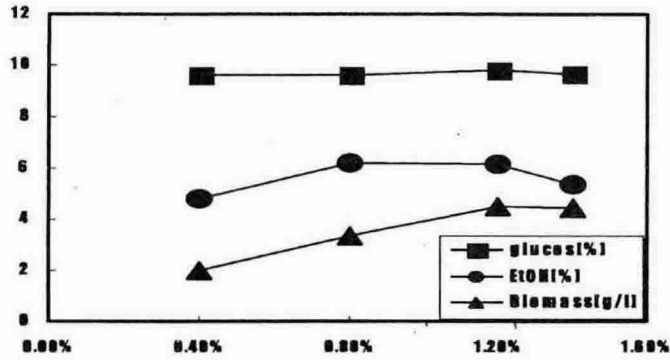


Fig. 1. Ethanol and Biomass production by CSL culture of strain of *Zymomonas mobilis* KCTC 1535

연속발효에서 주입기질의 당농도가 10%이고 CSL1.2%로 하고 48hr이후 희석비를 0.3hr^{-1} 로 하여 연속발효를 수행한 결과 평형상태에 도달하였을 때 EtOH의 농도는 4.8%이며 최대 Biomass의 농도는 78g/l로 나타났다. 연속배양에서 얻어진 에탄올의 수율은 0.47로써 이론적 수율 보다 다소 낮으며 그 이유는 glucose의 일부가 균체 생육과 2차 산물의 생성에 소비되기 때문으로 생각된다. (Fig. 2, Table. 2)

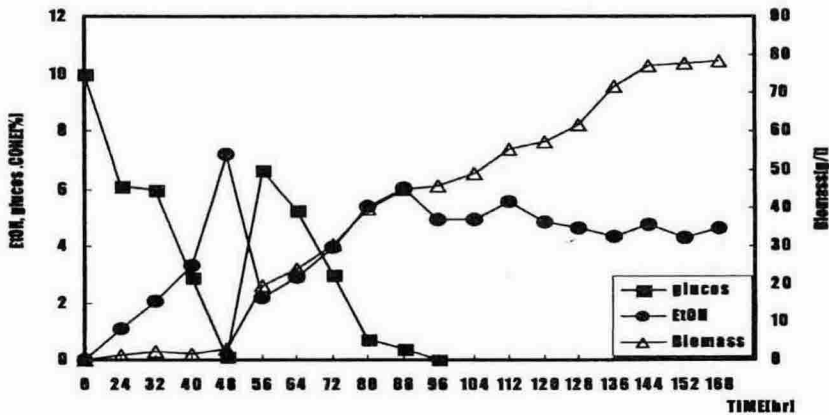


Fig. 2. Fermentation time vs Concentration of glucose, EtOH, and Biomass at Dilution rate 0.3hr^{-1}

Table. 2. The comparison of Maximum Drycellmass Production, Yield and Productivity in Dillution Rate at 0.3hr^{-1}

Dillution Rate (D, hr^{-1})	0.3
Maximum Cellmass Production (g drycellmass / L)	78.4
Yield (g EtOH / g glucose)	0.47
Maximum Productivity (g EtOH / L / hr)	14.06

투과증발기를 이용한 순수 투과율 실험에서는 EtOH농도 5, 8% 실험결과 온도 70℃에서 공급액의 유속이 492ml/min일 때 투과물의 Flux는 각각 0.035kg/m²/hr, 0.04 kg/m²/hr를 나타내었고 또한 투과물내의 EtOH의 농도는 각각 60%와 40%를 나타냈다 이 결과는 투과증발 공정에서 Flux와 더불어 공정 평가의 척도라고 할 수 있는 선택도로 나타내면 5, 8%의 EtOH에서 각각 8과 7.5로 나타났다. (Fig. 3. Fig. 4.)

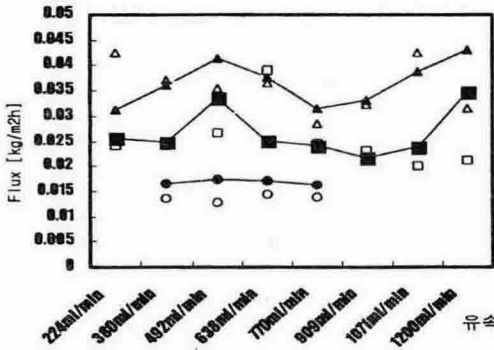


Fig. 3. Effect of feed solution flow rates on EtOH flux through PDMS membrane

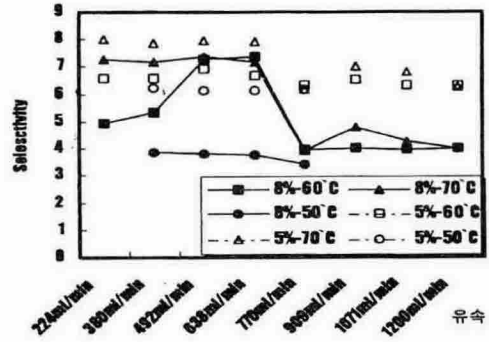


Fig. 4. Effect of feed solution flow rate on Selectivity through PDMS membrane

요약

혐기성 박테리아균인 *Zymomonas mobilis*을 이용한 에탄올 발효에서 사용한 균주가 pH변화에 대하여 강한 내성을 지니고 있으므로 pH 변화에 대한 생산성의 변화는 나타나지 않았다. 다만 주입 기질의 농도가 증가함에 따라 생성되는 알코올의 농도도 증가함을 알 수 있으나 생산성을 고려하여 glucose의 농도가 10%일 때 가장 경제성이 있음을 알 수 있었다. 연속발효에서 glucose의 농도를 10%로 하고 CSL을 1.2%로 하여 실험한 결과 Maximum Productivity는 14.06g EtOH/L/hr을 나타냈으며 glucose의 전환율은 0.47g EtOH / g glucose을 나타냈다.

알코올의 분리 농축을 위한 투과증발 실험에서는 공급액의 유속이 482ml/min이고 공급액의 농도가 8%, 온도가 70℃에서 투과물의 Flux는 0.04kg/m²/hr 이었으며 Selectivity는 7.5로 나타났다. 5~8%의 희석된 에탄올 수용액을 투과증발실험을 한 결과 7배 이상 농축되었다.

참고문헌

- 1) P.D. Sherman, et al, *In Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd. NO. 9. p338, Wiley, New York (1978)
- 2) J. G. Crespo and K. W. Boddeker, *Membrane process in Sseparation and Pariscation*, Kluwer academic publisher
- 3) McGregor, W.C.: *Membrane separations in biotrchnology*, vol 1, Marcel Dekker, INC., New York, 255 (1986)4 and Belfort, G.: *Biotechnol Bioeng.*, 33, 1047 (1989)