

폐지의 유기식 동시당화발효에 의한 에탄올 생산

권정기 · ¹문현수 · 김준석 · 김승욱 · †홍석인
고려대학교 공과대학 화학공학과, ¹고려대학교 생명공학원
(접수 : 1998. 8. 10., 게재승인 : 1999. 1. 10.)

Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation of Waste Paper to Ethanol

Jung-Ki Kwon, Hyunsoo Moon¹, Jun-Seok Kim, Seung-Wook Kim, and Suk-In Hong[†]
Dept. of Chem. Eng., Korea University, Seoul 136-701, Korea
¹Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea
(Received 1998. 8. 10., Accepted 1999. 1. 10.)

The fed-batch simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of newspaper to ethanol with *Brettanomyces custersii* was studied. The initial substrate concentration for the effective fed-batch SSF was 8% (w/v). The initial optimum enzyme concentration was 30 FPU/g cellulose for cellulase and the optimum volumetric ratio of β -glucosidase to cellulase was 0.1. When 4% (w/v) of ball-milled newspaper was supplemented intermittently at time intervals, considering the mixing of newspaper slurry, the fed-batch SSF showed higher ethanol concentration (26.80 g/L) and two times higher ethanol production yield based on enzyme than the batch SSF.

Key Words : fed-batch SSF, newspaper, ethanol, mixing problem

서 론

화석연료를 대체할 수 있는 다양한 에너지 자원의 개발이 필요하게 되어 섬유소계 바이오메스로부터 얻어지는 연료용 에탄올에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(1, 2). 지금까지 연료용 에탄올 생산원료로 사용되는 섬유소계 바이오메스는 크게 목질계 바이오메스, 농작물계 바이오메스, 그리고 고품 폐기물계 바이오메스로 나누어진다. 고품폐기물중 종이는 전체의 48%, 신문지는 단독으로 14%를 차지하고 있다(3). 폐지의 대부분을 차지하는 신문지는 보통 5-6번 재활용될 수 있고, 그 후에는 셀룰로오스 섬유가 종이를 만들기에는 매우 짧고 결합력이 약해져서 폐기물로 처리되어야 한다. 특히 근래에 종이에 대한 수요가 폭발적으로 증가하고 있고 여기에서 파생되는 폐지의 처리가 환경적인 측면에서 큰 문제로 제기되고 있다. 폐지는 원료비용이 목질계 바이오메스보다 훨씬 더 저렴하다. 또한 목질계 바이오메스는 매우 단단한 섬유소계 물질이기 때문에 우선 칩의 형태로 자르고 산처리나 증기폭쇄와 같은 여러 가지 기계적, 화학적 전처리를 해야한다. 그러나 폐지는 이미 종이를 만드는 과정에서

기계적, 화학적 처리를 거쳤기 때문에 목질계 바이오메스와 같은 강력한 전처리 과정을 필요로 하지 않는다. 폐지를 구성하고 있는 대부분의 종이들은 목질계 바이오메스보다 더 많은 셀룰로오스 함유량을 가지고 있는 반면 더 적은 리그닌 함유량을 가지고 있어 미생물 배양의 기질적 측면에서 훨씬 유리하다. 따라서 소각이나 매립에 의해 처리되어지는 폐지를 청정연료인 에탄올로 전환시켜줌으로써 폐기물의 양을 줄일수 있는 환경적 잇점을 얻을 수 있다(4,5).

현재 널리 사용되고 있는 연료용 에탄올 생산공정은 분리당화발효(Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) 공정과 동시당화발효(Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) 공정으로 나눌 수 있다. 동시당화발효 공정은 하나의 반응기에서 당화과정과 발효과정을 동시에 수행한다. 동시당화발효 공정에서는 당화과정에서 글루코오스가 생성되자마자 효모가 발효과정을 통해 글루코오스를 바로 이용하여 반응기내에 당의 축적을 최소화할 수 있다. 이러한 이유 때문에 동시당화발효 공정은 분리당화발효 공정에서 나타나는 가수분해 효소에 의한 최종 생성물의 억제작용을 방지할수 있고 따라서 효소의 가수분해 반응을 향상시킬수 있다. 부가적으로 장치비의 절감과 낮은 효소 투입량에 의한 비용감소 효과를 볼수 있고, 반응기내에 에탄올이 존재하므로 오염문제를 감소시킬 수 있는 장점이 있다(6).

섬유소계 바이오메스의 동시당화발효 공정에서 얻어진 에탄올이 연료용 에탄올로 사용되기 위해서는 보통 분리와 정제과정을 거쳐야 한다. 분리, 정제과정에 사용되기 위해 필요한 에탄올 농

† Corresponding Author ; Dept. of Chemical Engineering, College of Engineering, Korea University, Seoul 136-701, Korea
Tel . 02-3290-4032, Fax : 02-926-6102
e-mail : sihong@prosys.korea.ac.kr

도는 10%정도이며 6%이하의 농도에서는 경제적으로 매우 불리하다(7, 8). 그러나 최근에 Ladish등(9)은 기존의 증류공정에 흡착제를 사용한 흡착회수공정 (Sorptive Recovery Process)을 결합하여 4.5%의 에탄올로부터 99.4%의 연료용 에탄올을 얻었다 결국 현재까지 개발된 정제공정을 이용하여 연료용 에탄올을 경제적으로 얻기 위해서는 동시당화발효 공정에서 얻어진 에탄올의 농도가 최소한 4-5%이상이어야 한다. 회분식 조업의 경우 고농도의 에탄올을 생산하기 위해서는 고농도의 기질투입량이 요구되지만 폐지의 기질 특성상 10%이상의 기질에서는 혼합문제가 발생하여 현탁상태를 유지할 수 없으므로 고농도의 에탄올을 생산하기 어렵고 유가식 기질 투입을 도입하면 이러한 문제를 해결할 수가 있다(10). 그러나 아직까지 폐지의 동시당화발효에 의한 에탄올 생산에 대한 연구는 주로 회분식 공정에 머물러 있다.

본 연구는 연료용 에탄올을 생산하기 위해 대표적인 폐지의 하나인 신문지를 생산원료로 유가식 동시당화발효 공정을 도입하여 고농도의 에탄올 생산을 시도하였다.

재료 및 방법

재료

효소에 의한 당화반응의 기질로 이용된 폐지는 연구실에서 회수한 신문지 (한겨레 신문)을 사용하였다. 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. 효소는 에너지 기술 연구소에서 제공받았고 효소 역가는 Celluclast의 경우 FPase의 역가는 77 FPU/mL, β -glucosidase의 역가는 54I U/mL, Novozyme-188의 경우 β -glucosidase의 역가는 805 IU/mL이었다. 에탄올 발효에 이용된 균주는 *Brettanomyces custersii* CBS 5512를 모균주로 하여 돌연변이시켜 개발된 내열성 효모균주인 *Brettanomyces custersii* H1-39를 이용하였다(11). 성장 배지로 YPD broth (yeast extract 1% (w/v), peptone 2% (w/v), dextrose 2% (w/v))를 사용하였다.

실험방법

2 L의 반응기에서 tap-water로 50 g/L의 신문지 농도로 조절한 후 100°C에서 30분간 처리하고 ball-milling 시키는 방법으로 전처리를 수행하였다(12). 전처리한 신문지 슬리리를 증류수에 24시간 방치한 후 drying oven (50°C)에서 건조하였다. 효소를 이용한 당화반응은 500 mL Erlenmeyer flask에 기질과 pH 4.8로 조절한 0.5 M citrate buffer 용액을 200 mL의 슬리리로 만들어 진탕배양기에서 수행하였다. 반응도중 5 mL씩 시료를 채취하여 5분간 100°C 항온수조에서 효소를 불활성화시킨 후 원심분리하여 얻은 여과액을 분석하였다. 이때 진탕배양기의 회전속도는 200 rpm이었으며 온도는 40°C이었다. 폐지의 동시당화발효는 500 mL Erlenmeyer flask에 기질과 citrate buffer용액을 넣고 환성화된 6 g/L 농도의 균체를 10% (v/v)로 접종한 후 효소를 첨가하여 수행하였다. 이때 최종 부피는 200 mL이었고 진탕배양기의 조건은 200 rpm, 40°C이었다. 반응기에서의 동시당화발효는 flask상의 동시당화발효와 똑같은 방법으로 하였고 조입 부피를 flask의 5배인 1 L로 하였다. 유가식 동

시당화발효에서는 회분식 동시당화발효를 통해 기질 투입시기를 결정하여 기질을 4% (w/v)씩 투입하였다. 기질을 투입한 후 다시 교반시키며 반응을 시작하였다.

분석방법

당화액 속의 글루코오스 농도는 글루코오스 측정용시약 (영동 제약)을 이용해 GOD-POD효소법으로 0.02 ml의 반응액에 글루코오스 산화효소 3 ml를 첨가하여 37°C에서 18분간 반응시킨 다음 곧바로 냉각시켜 505 nm에서의 흡광도로부터 글루코오스의 농도를 결정한다. 당화액은 대부분 셀로바이오스와 글루코오스로 구성되므로 셀로바이오스는 DNS방법(13)에 의한 환원당 농도에서 글루코오스의 농도를 뺀 값을 셀로바이오스 농도로 하였다. 발효액중의 에탄올은 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.

결과 및 고찰

전처리한 신문지 기질의 독성 파악

기질의 독성문제는 동시당화발효 공정에서 기질의 총 투입량을 제한하고 결국 최대 생산할 수 있는 최종 에탄올 농도를 결정하는 매우 중요한 요소이다. 기존의 목질계 바이오매스의 경우 일반적으로 묽은 산과 증기폭쇄의 전처리 과정을 사용하는데 증기 폭쇄 과정에서 생성되는 헤미셀룰로오스와 리그닌의 분해산물이 에탄올 발효에 상당한 저해를 하는 것으로 보고되고 있다(14). 따라서 tap-water로 100°C에서 30분간 처리한 후 ball-milling 시키는 방법으로 전처리를 거친 신문지 기질 자체의 독성 유무를 간접적으로 알아보았다.

Figure 1와 Figure 2는 목질계 바이오매스 (ball-milled steam exploded wood)와 신문지 (Tap-water, 100°C, 30 min + ball-milling)를 각각 4%, 6% (셀룰로오스 함량 기준)로 투입했을 때의 에탄올 생산을 나타낸다. 이때 효소투입량은 60 FPU/g cellulose이었다. Figure 1과 Figure 2에서 보여주는 바와 같이 4% (w/v)에서는 목질계 바이오매스와 신문지의 에탄올 수율이 셀룰로오스를 기준으로 했을 때 각각 이론수율의 65.7%, 67.1%로 큰 차이를 보이지 않았으나, 6% (w/v)에서는 각각 19.5%, 65.3%로 목질계 바이오매스의 경우 에탄올 수율이 매우 낮았다. 반면에 신문지는 기질투입량이 증가하더라도 에탄올 수율이 거의 일정하였다. 그러므로 신문지 자체에 효소나 효도에 저해작용을 가지는 유독한 성분은 거의 없다고 사료된다. 본 연구의 신문지의 전처리 조건은 비교적 낮은 온도에서 이루어졌고 용매로서 물을 사용했기 때문에 독성물질이 거의 생성되지 않은 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서 전처리된 신문지를 기질로 사용할 경우 독성물질을 제거공정 없이 고농도 기질에서의 동시당화발효 공정을 가능하게 한다. 그러나 고농도의 신문지 슬리리는 서론에서 언급한 바와 같이 혼합문제가 발생하여 현탁상태의 유지가 불가능하므로 유가식 기질 투입이 불가피하다.

유가식 동시당화발효를 위한 초기 효소 농도 결정

효소는 첨유소재 바이오매스로부터 에탄올을 생산하는데 드는

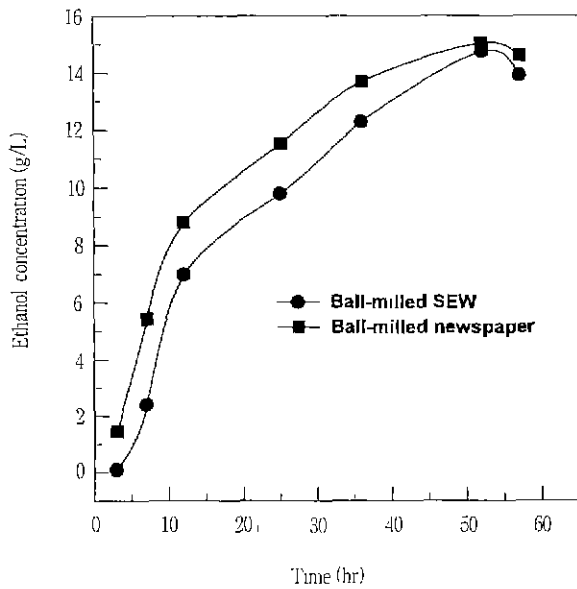


Figure 1. The effect of different substrate on ethanol production in SSF at 40°C, 200 rpm Substrate concentration : 4% (w/v) cellulose, enzyme loading : 60 FPU/g cellulose. SEW : steam exploded wood

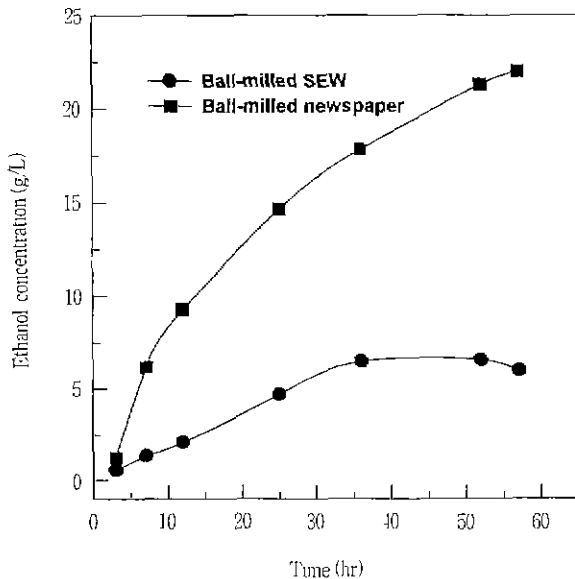


Figure 2. The effect of different substrate on ethanol production in SSF at 40°C, 200 rpm Substrate concentration : 6% (w/v) cellulose, enzyme loading : 60 FPU/g cellulose. SEW : steam exploded wood

비용의 상당부분을 차지하고 있으며 효소 생산 공정은 전체 비용의 27-40%를 차지한다고 보고되었다(15). 일반적으로 초기 효소 투입량이 많을수록 가수분해속도는 빨라지고 최종 수율도 높아지지만 전체 효소 투입량과 반응속도, 최종수율은 경제적인 관점에서 서로 상반되는 관계를 가지고 있기 때문에 이를 적절히 조절할 필요가 있다. 특히 회분식 가수분해 반응에서는 글루코오스의 저해작용 때문에 β -glucosidase의 양을 충분히 첨가

해야 하지만 동시당화발효 공정에서는 글루코오스의 저해작용이 거의 없으므로 상대적으로 β -glucosidase의 양을 크게 줄일 것으로 기대된다(16). 동시당화발효 공정에서 적절한 양의 효소투입은 전체공정의 비용을 감소시키므로 이를 실험적으로 결정하였다. 유가식 동시당화발효에서의 최적 효소 투입량은 회분식 동시당화발효에서 결정된 최적 효소 투입량과 일치하므로 이를 위해 cellulase와 β -glucosidase의 투입량에 따른 에탄올 생산성을 조사하였다.

Figure 3은 과량의 β -glucosidase를 넣고 cellulase의 농도를 15-150 FPU/g cellulose까지 변화시켰을 때의 에탄올 생산을 나타낸 것이다. 반응시간이 60시간이 지났을 때 30 FPU/g cellulose의 cellulase 농도까지는 에탄올 농도가 효소 농도에 비례하였지만 그 이상의 효소 농도에서는 효소농도를 2배 증가시켰을 때 에탄올의 농도는 약 11배 증가로 매우 작음을 알 수 있다. 또한 효소 농도가 120 FPU/g cellulose 이상에서는 에탄올의 농도가 감소하는 현상을 보였다. 이러한 결과로부터 30 FPU/g cellulose의 효소농도에서는 대부분의 셀룰로오스 반응 표면이 효소에 의해 포화되기 효소의 경제성을 고려할 때 유가식 동시당화발효의 최적 효소투입량이라고 사료된다.

Figure 4와 Figure 5는 cellulase의 효소 농도를 30 FPU/g cellulose로 고정시키고 β -glucosidase의 농도를 변화시키면서 동시당화발효를 수행했을 때 시간에 따른 에탄올 생산과 최종 전환율을 나타낸 것이다. β -Glucosidase와 cellulase의 부피비가 0.1 (활성비 : 1.05)일때까지는 에탄올 농도가 β -glucosidase의 양이 증가할수록 같이 증가하였지만 그 이상의 β -glucosidase 농도에서는 에탄올 농도에 영향을 주지 못했다. 효소 가수분해 반응은 cellulase가 셀룰로오스를 셀로바이오스로 전환시키는 반응과 β -glucosidase가 셀로바이오스를 글루코오스로 전환시키는 두가지 단계로 이루어져 있다. 본 실험의 결과로부터 β -glucosidase와 cellulase의 부피비가 0.1이상에서는 cellulase가 셀룰로오스를 셀로바이오스로 전환시키는 반응이 율속단계라고 사료된다.

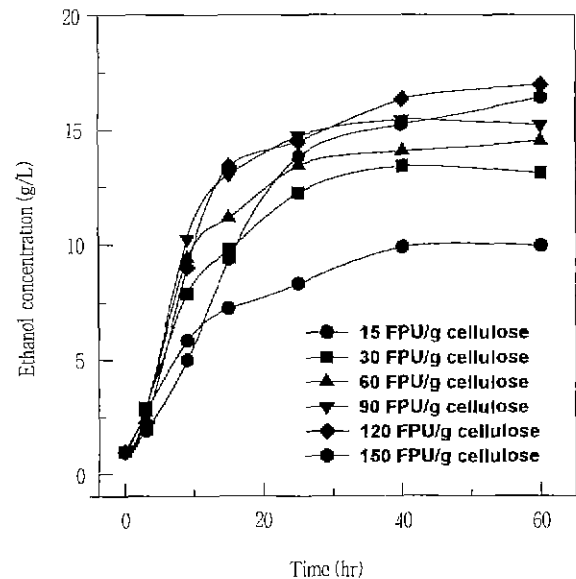


Figure 3. The effect of cellulase concentration on ethanol production in SSF at 40°C, 200 rpm Substrate concentration : 4% (w/v) cellulose

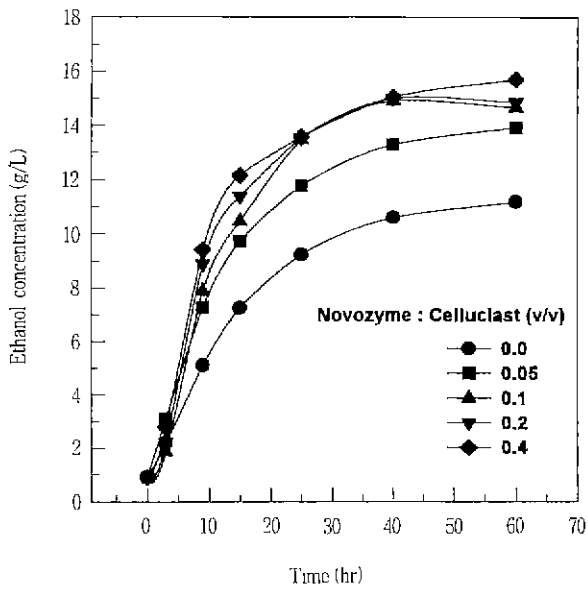


Figure 4 The effect of ratio of β -glucosidase and cellulase on ethanol production in SSF at 40°C, 200 rpm. Substrate concentration : 4% (w/v) cellulose, enzyme loading : 30 FPU/g cellulose

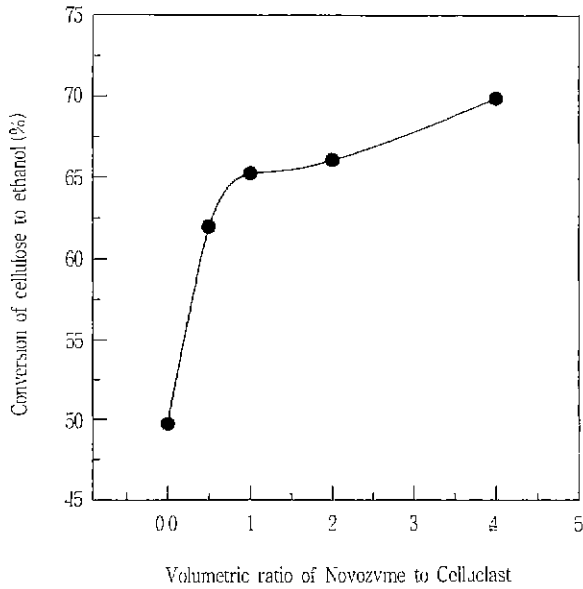


Figure 5. Conversion of cellulose in newspaper to ethanol according to different volumetric ratio of Novozyme to Celluclast in SSF, at 40°C, 200rpm. Substrate concentration : 4% (w/v) cellulose, enzyme loading : 30 FPU/g cellulose.

유가식 동시당화 발효를 위한 기질 투입 전략

목질계 바이오매스의 경우 6-10% (w/v)가 혼합 문제를 일으키는 초기 기질 투입량이라고 보고되었고(17), 이러한 문헌 결과를 토대로 실제 공정에서 전처리된 신문지가 기질로 사용될 때 혼합 문제를 일으키는 초기 기질 제한농도를 조사하였다. Figure 6은 목질계 바이오매스의 10% 기질농도가 혼합 제한농도라고 보고 10%의 목질계 바이오매스 농도와 일반적으로 사

용되는 150 rpm을 기준으로 하이 전처리된 신문지의 기질 투입량 증가에 따른 회전속도를 조사한 것이다 Figure 6에서 보여주는 바와 같이 초기 기질 농도 4-8% (w/v)까지는 150 rpm을 유지하다가 8%이상의 농도에서는 교반속도가 감소함을 알 수 있다. 위의 결과로 볼때 전처리된 신문지의 경우 초기 기질 투입량이 8% 이상일때 실제로 규모확대된 공정에서 혼합 문제를 일으키는 제한 요소로 작용한다고 사료되며 유가식 동시당화발효의 초기 기질농도를 8% (w/v)로 결정하였다

이렇게 결정된 8%의 기질농도를 가지고 반응기에서 희분식 동시당화발효를 수행하였고 시간에 따른 교반속도를 조사하였다

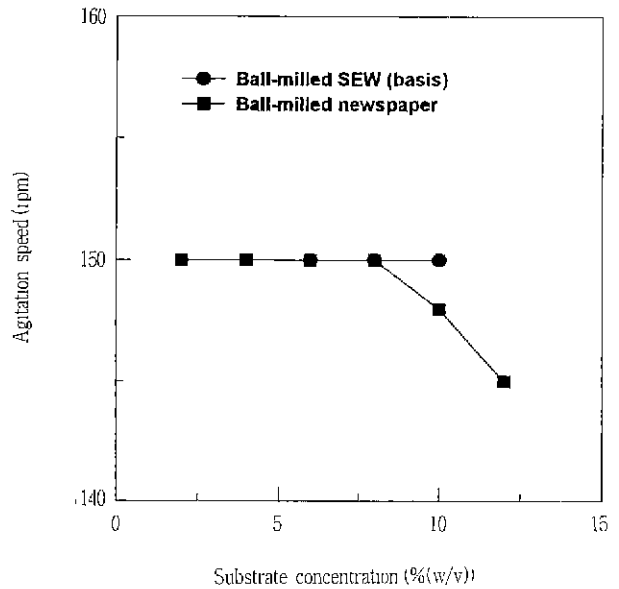


Figure 6. The effect of initial substrate concentration on agitation speed (agitation speed is measured with tachometer).

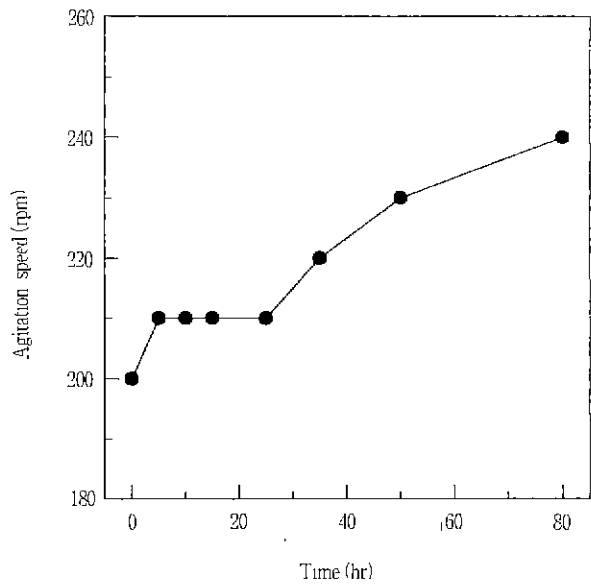


Figure 7. The change of agitation speed during SSF of newspaper at 40°C. Substrate concentration : 8% (w/v) newspaper, enzyme loading : $E_1 = 30$ FPU/g cellulose, $E_2 = 1330$ IU/L.

이때 효소 투입량은 앞에서 결정된 최적 조건을 사용하였다. Figure 7이 보여주는 바와 같이 반응이 진행됨에 따라 교반기의 회전속도가 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 당화반응이 진행되면서 반응액의 점도가 감소하기 때문이라 사료된다. 초기 200 rpm의 교반속도가 반응 25시간까지는 210 rpm으로 증가하였고 그 이후로는 대부분의 신문지 기질이 가수분해 반응에 의해 해리되어 반응액의 점성이 상당히 낮아졌음을 보여주었다. 본 실험으로부터 8%의 초기기질 농도를 가지고 반응기에서 유가식 동시당화발효를 수행할 때 기질 투입은 반응이 25시간 지난 후에 간헐적으로 투입되어야 한다고 사료된다.

에탄올 농도가 cellulase에 미치는 영향

유가식 동시당화발효 고농도의 에탄올이 존재할 가능성이 높기 때문에 에탄올이 cellulase에 미치는 영향을 고려해야 한다. Figure 8은 0-60 g/L의 에탄올 농도를 가지고 신문지의 효소가 수분해 시 반응시간에 따른 글루코오스의 농도를 나타낸 것이다. 에탄올이 β -glucosidase에도 영향을 미치므로 이에 대한 영향을 배제하기 위하여 β -glucosidase와 cellulase의 부피비를 0.3으로 하여 과량으로 투입하였다. 0~40 g/L의 에탄올 농도에서는 초기 효소반응 속도가 큰 차이를 보이지 않았지만 40 g/L 이상의 농도에서는 cellulase에 상당한 저해작용을 보였다. 또한 에탄올의 cellulase에 대한 저해작용은 초기속도에 영향을 주지 못하는 0~40 g/L의 에탄올 농도에서도 시간의 경과에 따라 축적되는 integrated factor의 특성을 보였다. 유가식 동시당화발효에서 40 g/L 이상의 에탄올 농도를 얻기 위해서는 에탄올의 효소 저해작용을 고려한 cellulase의 첨가가 필요하다고 사료되나 효소 투입량과 최종 에탄올 농도는 전체 동시당화발효 공정의 비용에서 서로 상반되기 때문에 효소 투입량의 최적화시 이를 고려해야 한다.

교반식 반응기에서의 유가식 동시당화발효

유가식 동시당화발효의 초기 최적조건은 8% (w/v) 기질, 30 FPU/g cellulose의 cellulase, 0.1의 β -glucosidase : cellulase 부피비(활성비, 1.05)로 결정되었다. 실제 동시당화발효 공정의 조업은 반응기에서 이루어지므로 위의 초기 조건을 가지고 회분식 동시당화발효와 유가식 동시당화발효를 반응기에서 수행하였다. 반응기에서의 조업부피는 1 L이었고 impeller는 6-flat-blade disc-turbine이었다. 반응조건은 40°C의 온도와 200 rpm의 교반속도를 유지하였다. 유가식 동시당화발효의 기질투입은 기질 슬러리의 혼합특성을 고려하여 반응이 25시간 지난후에 15시간마다 4% (w/v)의 기질을 간헐적으로 투입하는 방법을 사용하였다. Figure 9는 반응기에서 회분식 동시당화발효의 결과를 나타낸 것이다. 회분식 동시당화발효에서 반응은 25시간에서 거의 종결되었고 셀룰로오스의 에탄올 전환율은 28%이었다. Figure 10은 유가식 동시당화발효의 결과를 나타낸 것이다. 첫 번째 기질은 최초 투입한 기질의 반응이 거의 종결되고 교반기의 회전속도가 증가하는 25시간에 투입하였다. 기질 투입 직후 200rpm의 교반속도에서 혼합물체가 발생하였으나 반응이 진행됨에 따라 impeller 주변에서만 혼합되던 신문지 슬러리가 반응기 전체에서 혼합되기 시작하였다. 반응 40시간에 두 번째로 기질(4% (w/v))을 투입하였다. 두 번째 기질투입 후 200 rpm에서 혼합물체가 매우 심각하여 런락 상태를 유지할 수 없었고 에탄올

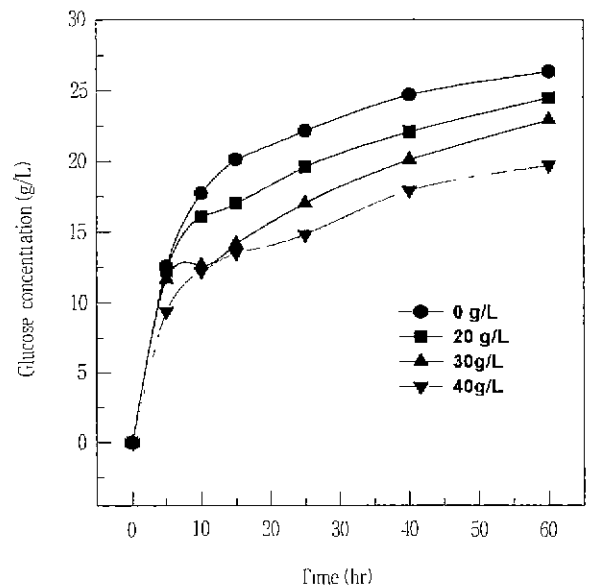


Figure 8. The effect of ethanol on glucose production in enzymatic hydrolysis of newspaper at 40°C, 200 rpm. Substrate concentration 41.6 g cellulose/L, enzyme loading : 60 FPU/g cellulose

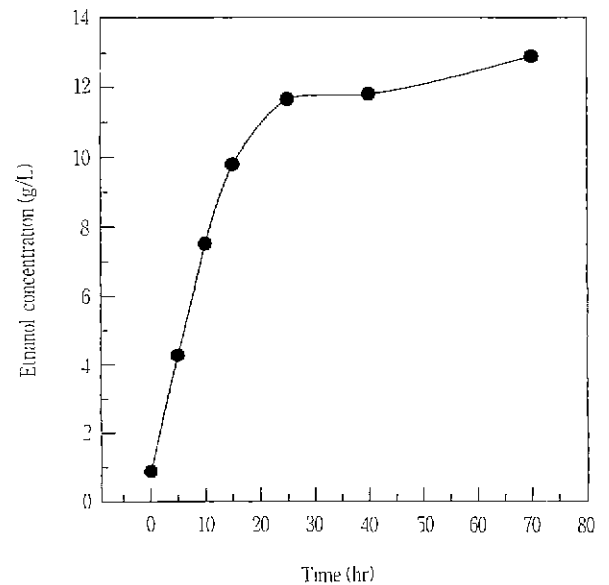


Figure 9. Ethanol production in batch SSF at bioreactor with economically optimized conditions at 40°C, 200 rpm. Substrate concentration : 8% (w/v) newspaper, enzyme loading : $E_1 = 30$ FPU/g cellulose, $E_2 = 1330$ IU/L

도 거의 생산되지 않았다. 이러한 혼합물체를 해결하기 위해 세 번째 기질이 투입되는 55시간에서 교반속도를 육안으로 볼 때 이상 혼합을 유지하도록 500 rpm으로 높여주었다. 500 rpm으로 높이고 난 후 처음에는 여전히 에탄올이 생산이 낮았으나 15시간이 지난 후부터는 에탄올을 생산이 매우 빠르게 진행되었고 반응 90시간에서 26.8 g/L의 에탄올을 얻을 수 있었다.

Table 1은 회분식 동시당화발효와 유가식 동시당화발효의 여

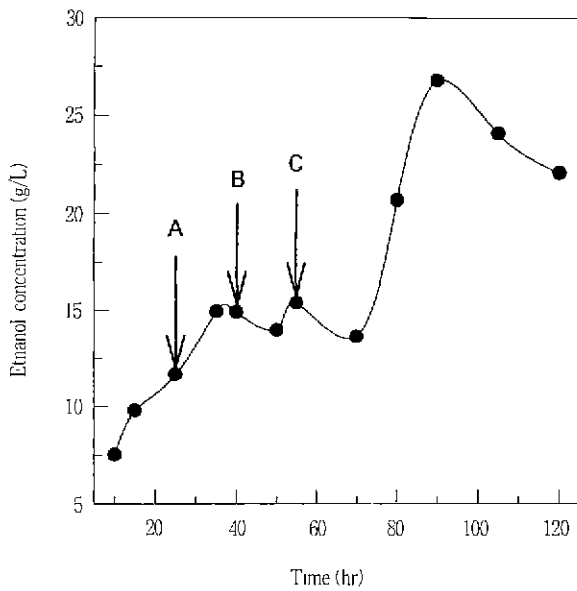


Figure 10. Ethanol production in fed-batch SSF of newspaper at bioreactor at 40°C, Initial substrate concentration : 8% (w/v) newspaper, initial enzyme loading : E₁ = 30 FPU/g cellulose, E₂ = 1330 IU/L

- A : addition of 4% (w/v) newspaper addition, at 200 rpm.
- B : addition of 4% (w/v) newspaper addition, at 200 rpm.
- C : addition of 4% (w/v) newspaper addition, at 500 rpm

Table 1. Comparison of performance index between batch SSF and fed-batch SSF

Performance index	Values	
	Batch SSF	Fed-batch SSF
Maximum ethanol concentration (g/L)	12.90	26.80
Ethanol production yield based on cellulose in newspaper ^a	0.28	0.23
Ethanol production yield based on enzyme (g/mL) ^b	0.71	1.47
Productivity (g/L/h) ^c	0.47	0.30

$$*a : \frac{\text{ethanol concentration}}{(\text{total newspaper concentration}) \times 11 \times 0.52}$$

$$*b : \frac{\text{ethanol concentration}}{\text{total enzyme concentration}}$$

$$*c : \frac{\text{ethanol concentration}}{\text{reaction time}}$$

In this calculation, the change of working volume was ignored.

리 가지 performance index를 나타낸 것이다. Table 1으로부터 유가식 동시당화발효는 회분식 동시당화발효에 비해 최고 에탄올 농도와 효소를 기준으로 하는 에탄올 생산 수율에서 더 높은 값을 나타내었다. 폐 신문지를 이용한 동시당화발효 공정에서 기질을 기준으로 하는 에탄올 생산 수율은 폐지의 원료비용이 거의 들지 않기 때문에 전체 비용에 대한 기어는 매우 적다고 사료된다. 그러므로 유가식 동시당화발효공정은 회분식 동시당화발효 공정보다 더 유리하다고 평가된다

고농도의 에탄올을 생산하기 위한 유가식 동시당화발효에서는 고농도의 기질 투입을 요구한다. Figure 10의 결과에서 보여주는 바와 같이 유가식 동시당화발효의 제한요소는 효소의 비활성화, 효모의 발효능 감소, 영양분의 부족이 아니라 반응기 내에서 기질 슬러리의 혼합 문제인 것 것으로 나타났다. 결국 유가식 동시당화발효에서 고농도의 에탄올을 생산하기 위해서는 효과적인 교반을 수행할 수 있는 반응기의 도입이 매우 중요하다고 사료된다. TBN(Turbine impeller fermentor)보다 높은 혼합 능력을 가진 Maxblend fermentor나 Helical ribbon impeller fermentor를 도입할 경우 보다 높은 농도의 기질 투입이 가능하여 고농도의 에탄올 생산을 기대할 수 있을 것이다.

요 약

Brettanomyces custersii 를 이용하여 신문지의 유가식 동시당화발효에 의한 에탄올 생산에 대한 연구를 수행하였다. 유가식 동시당화발효에 의한 에탄올 생산을 효과적으로 수행하기 위한 초기 기질 투입 농도는 8% (w/v)이었고 효소의 비용을 감안한 최적 효소 농도는 cellulase의 경우 30 FPU/g cellulose, β-glucosidase와 cellulase의 부피비가 0.1 (활성비 1.05)이었다 앞에서 결정된 초기 조건들을 가지고 교반식 반응기에서 수행된 유가식 동시당화발효는 26.8 g/L의 에탄올을 생산하였으며, 효소를 기준으로 한 에탄올 생산성에서 회분식 동시당화발효보다 약 2 배의 값을 나타내었다

감 사

본 연구는 에너지 자원 기술 개발 지원 센터 (1997) 에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다

참 고 문 헌

1. Vinzant, T. B., L. Ponfick, N. J. Nagle, C. I. Ehrman, J. B. Reynolds, and M. E. Himmel (1994), SSF comparison of selected woods from southern sawmills, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 45/46, 611-626.
2. Nguyen, Q. A., J. H. Dickow, B. W. Duff, J. D. Farmer, D. A. Glassner, K. N. Ibsen, M. F. Ruth, D. J. Schell, I. B. Thompson, and M. P. Tucker (1996), NREL/DOE ethanol pilot-plant : current status and capabilities, *Bioresour. Technol.*, 58, 189-196.
3. Scott, C. D., B. H. Davison, T. C. Scott, J. Woodward, C. Dees, and D. S. Rothrock (1994), An advanced bioprocessing concept for the conversion of waste paper

- to ethanol. *Appl. Biochem Biotechnol.*, **45/46**, 641-653.
4. Lonther, D.C. (1990), Economic evaluations for short rotation biomass production systems. *Biomass*, **22**, 135-144.
 5. Duff, S. J. B., J. W. Moritz, and T E Casavant (1995), Effect of surfactant and particle size reduction on hydrolysis of deinking sludge and nonrecyclable newsprint, *Biotechnol. Bioeng.*, **45**, 239-244.
 6. Hinman, N. D., D. J. Schell, C J Rley, P. Bergerson, and P J. Walter (1992), Preliminary estimate of the cost of ethanol production for SSF technology, *Appl. Biochem Biotechnol.*, **34/35**, 639-649
 7. Cysewski, G R. and C. R. Wilke (1978), Process design and economic studies of alternative fermentation methods for the production of ethanol, *Biotechnol Bioeng.*, **20**, 1421-1444
 8. Dzenis, A. and J. McNab (1984), Commercial recovery processes for ethyl alcohol, *In Proc. VI International Symp. Alcohol Fuels Technology*, vol.2, 128-131.
 9. Gulati, M. G., P. J Westgate, M. Brewer, R Hendrickson, and M. R Ladish (1996), Sorptive recovery of dilute ethanol from distillation column bottoms stream, *Appl. Biochem Biotechnol.*, **57/58**, 103-119.
 10. Wayman, M., S. Chen, and K. Doan (1992), Bioconversion of waste paper to ethanol, *Process Biochem.*, **27**, 239-245.
 11. 홍영기. (1995), "섬유소 물질의 동시당화발효를 위한 균주 개발 및 세포고정화에 의한 에탄올 수율의 향상", 석사학위 논문, 유전공학과, 수원대학교, 수원
 12. 권정기 (1997), "고농도 폐지 슬러리로 부터 알콜 생산을 위한 동시당화발효공정의 동력학적 연구", 석사학위 논문, 화학공학과, 고려대학교, 서울.
 13. Lee, JM (1992), *Bichemical Engineering*, Prentice-Hall International, Inc, pp 94.
 14. Olsson, L. and B H Hagerdal (1996), Fermentation of lignocellulosic Hydrolysates for Ethanol Production, *Enzyme Microb. Technol.*, **18**, 312-331
 15. Lynd, L. R., J H Cushman, R. J. Nichols, and C. E. Wyman (1991), Fuel ethanol from cellulosic biomass, *Science*, **251**, 1318-1322
 16. Wright, J. D (1988). Ethanol from biomass by enzymatic hydrolysis, *Chem Eng. Prog.*, **84**, 62-74
 17. Douglas, L J. (1989), A technical and economic evaluation of wood conversion processs Energy, Mines and Resources Canada, Final Report 23283-8-6691.