한국생물공학회지 제7권 제1호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 7. No. 1. 9-14(1992)

탑형발효기에 의한 에탄올 생산

서 근 학·*송 승 구
부산수산대학교 자연대 화학과, *부산대학교 공대 화공과

Performance of Cone Type Tower Fermentor for Ethanol Production

Kuen Hack Suh, *Seung Koo Song
Dept. of Chemistry, National Fisheries University of Pusan
*Dept. of Chemical Engineering, Pusan National University

ABSTRACT

A cone type of tower fermentor loaded with flocculating Sacchromyces uvarum was used to study the fermentor performance. The performance of cone type fermentor was compared with those of other fermentors.

The maximum yeast concentration in the cone type of tower fermentor was 35.9-43.0 g/l. hr and the maximum ethanol productivity was 14.75 g/1. hr at the dilution rate 0.26 hr^{-1}. The ethanol yied was 0.446-0.472 g ETOH/g Glucose.

It was concluded that a cone type of tower fermentor might offer better perspectives for continous etanol fermentation.

서 론

Biomass로 부터 연료용 및 음료용 에탄올 생산에 관한 연구는 재생가능한 자원의 개발 및 연구에서 중요한 몫을 차지하고 있다(1-3). 전통적으로 에탄올 발효는 회분식 공정에 의존하였으나, 회분식 발효조는 cell이 성장주기의 모든 과정을 경과하여야 하므로 에탄올 생산성이 매우 낮다. 회분식 발효조에 비하여 CSTF(Continuous Stirred Tank Fermentor)는 cell의 성장조건이 일정하므로 평균 cell 농도의 증가에 의하여 에탄올 생산성은 증가하나, 발효조의 출구를 통하여 연속적으로 cell이 유출되므로 공급유량을 크게 증가할 수 없다. 회분식 발효조와 CSTF는 전술한 단점으로 인하여 발효속도가 느려서(4) 일정한 시간내에 많은 량의 에탄올을 생산하기 위해서는 cell의 유출을 방지하여 고농도의 cell을 유지할 수 있는 효율적 발효기의 개발이 매우 기대되고 있다. Cell의 농도를 증가시킨 가장 간단한 장치는 좁은 수직관의 관형발효기에 응집성이 강한 효모를 이용하는 탑형발효기(Tower Fermentor)이다. 탑형발효기는 1960년대에 주류산업계에서 회분식 발효조보다 높은 생산성을 유지하면서 효과적인 연속발효를 수행하기 위한 새로운 발효기로 개발되었다(5-8). 탑형발효기는 발효기 하부에 기질용액을 공급하므로서 응집성이 강한 cell이 일부 분산되어 발효기 상부로 이동하지만 발효기 상부에서 다시 응집하여 중간위치로 돌아오게 된다. 이러한 형태의 발효기는 관형 발효기와 CSTF의 중간형태라고 생각되어 진다. 탑형발효기 내부의 효모농도 및 효모층의 높이는 효모의 응집성, 공급유량 속도, 탄산가스의 발생량 및 기질용액의 밀도등에 좌우된다. 공급유량 속도가 낮고 탄산가스 발생량이 적을수록 탑형발효기의 상부층에는 효모 floc이 거의 없으나, 공급유량속도와 탄산가스 발생량이 많은 경우 발효기의 상부층에도 효모 floc이 상승하여 존재한다. 탑형발효기의 중요한 장점은 효모를 분리하기 위한 별도의 원심분리 혹은 교반장치가 필요없으므로 장기간 연속 운전시 운전경비를 최소로 한다.

탑형발효기에서 에탄올 발효시 발생하는 문제점중의 하나는 많은양의 탄산가스 발생현상이다. 발생한 탄산가스에 의하여 발효기 내부의 효모 floc등이 발효조 상부에 분산되어 배출되는 액과 함께 유출되는

현상으로 인하여 발효기 내부의 효모농도를 감소시켜 에탄올 생산성을 감소시킨다(9). Ryu(9)등은 높이가 증가함에 따라 단면적이 증가하는 Tapered Column Bioreactor에 κ-carrageenan에 고정화된 효모를 충전하여 발효기 상부로 상승함에 따라 증가하는 탄산가스 발생량에 의한 문제점을 일부 해소하여 에탄올 생산성을 증대하였으며, Gowthaman (10)등도 발효기 상부로 갈수록 배지의 선속도를 감소시킨 bioreactor를 이용하여 호기적 조건에서 효모를 효과적으로 배양하였다.

본 연구의 목적은 cone형태의 탑형발효기를 이용하여 에탄올을 생산하며 공급유량에 따른 에탄올 생산성, 효모 분리능 및 운전안전성을 관찰하여 운전특성을 연구하였다.

재료 및 방법

사용 균주와 배지 조성

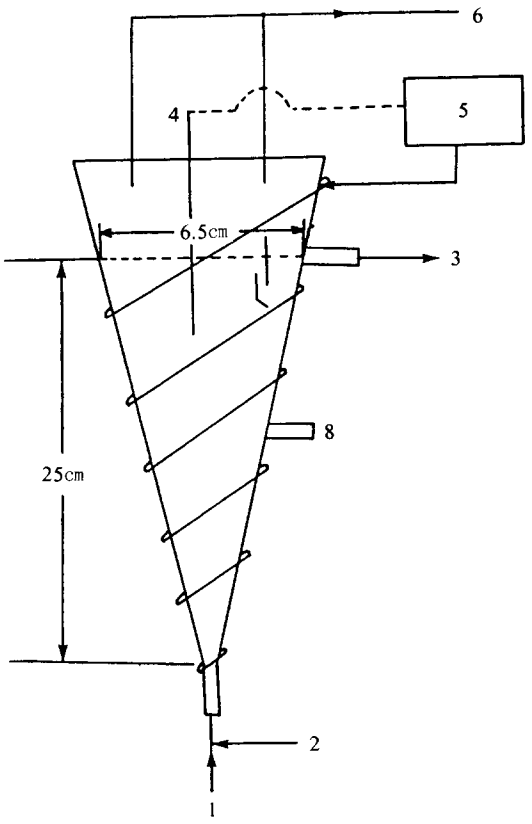
본 연구에 사용한 균주는 에탄올 생산성과 응집성이 높은 *Sacchromyces uvaram* ATCC 26602이다. 호기성 조건의 효모배양 및 연속발효기 배지의 조성은 Cysewski등(11)이 사용한 조건과 동일하게 하여 사용하였다. 포동당과 영양분은 별도로 5N-H_2SO_4을 이용하여 pH 5.0되게 조절한 후 121℃에서 30분간 멸균하여 냉각후 혼합하였다.

분 석

탑형발효기 내부 및 출구에서 시료를 2㎖ 취하여 발효기 내부 및 출구의 효모 농도를 분석하고, 원심분리(10,000rpm, 3분)시켜 상등액을 이용하여 포도당과 에탄올 농도를 분석하였다. 효모농도는 분광광도계를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 건조 균체량으로 환산하였다(12). 포도당농도는 DNS방법(13, 14)을 이용하였고, 에탄올 농도는 가스크로마트그라프를 이용하여 분석하였다.

Cone형태 탑형발효기

Polyacryl로 제작한 cone형태 탑형발효기의 상부 내부직경은 6.5cm이고 높이는 25cm이며(액체 용적 : 300㎖), cone형태 탑형발효기의 개요는 Fig. 1과 같다. 탑형발효기는 하부에서 상부로 갈수록 단면적이 증대하도록 cone형태로 제작되어졌으며, 탑형발효기 상부에는 배출되는 용액중의 효모가 중력침강이 용이하도록 발효기 내부로 재순환 되도록 효모농도를 증대하기 위한 baffle을 설치하였다.



1. Gas feed line
2. Media feed line
3. Over flow line
4. Thermocouple
5. Temperature Controller
6. CO_2 exit line
7. Heating tape
8. Sample port

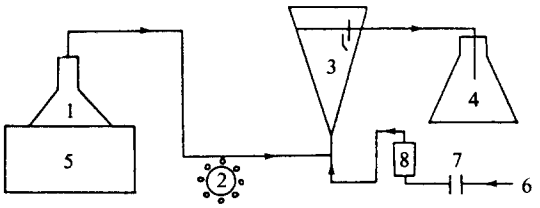
Fig 1. The cone type tower fermentor.

탑형발효기의 내부온도를 30℃로 일정하게 유지하기 위하여 발효기 외부에 가열 테이프를 설치하여 온도조절기로 조정하였다. 탑형발효기 하부에는 공기를 공급하기 위한 공급관을 설치하여 공기유량을 조절하였다.

연속발효 실험

75% 에탄올로 멸균된 탑형발효기에 호기성조건에서 배양된 효모용액을 충전한 후에 희석율 0.1hr⁻¹되게 13.7%(w/v) 포도당 용액의 공급속도를 30㎖/hr 되게 공급하여 연속발효 실험을 수행하였다. 탑형발효기의 하부에는 공기 공급량이 0.1vvm이 되게 30㎖/mn로 공급하여 효모성장을 촉진할 뿐만 아니라 발효초기에 효모의 침강을 방지하여 균일하게 분

산하도록 하였다. 탑형발효기의 온도는 온도조절기를 이용하여 30±0.5℃로 일정하게 유지하였고, 연속발효 실험에 사용된 장치의 개략은 Fig. 2와 같다.



1. Medium reservoir
2. Peristaltic pump
3. Cone type fermentor
4. Product receiver
5. Shaking water bath
6. Inlet Air
7. Air filter
8. Flowmeter

Figure 2. Schematic diagram of experimental apparatus.

결과 및 고찰

탑형발효기 특성

탑형발효기의 특성을 고찰하기 위하여 기질용액인 13.7%(w/v)의 포도당 용액을 공급하면서 cone형태 탑형발효기를 이용한 연속발효 실험을 수행하였다. 발효를 수행한 결과 탑형발효기 출구에서 운전시간 변화에 따른 발효기 내부 및 출구의 효모 농도를 Fig. 3에 나타내었다.

실험 결과에서와 같이 운전초기에는 탑형발효기내의 효모농도를 효과적으로 증대하기 위하여 낮은 희석율인 0.1hr^{-1}로 운전하였다. 탑형발효기는 하부에 공급된 공기에 의하여 혼합된 상태였으므로 초기에는 효모 floc이 눈으로 관찰되지 않았으나, 운전 2~3일부터 적은 효모 floc이 눈으로 관찰되었으며 운전일수가 경과함에 따라 1㎜크기의 효모 floc이 관찰되었으나 그 이상 증대하지는 않았다. 운전시작 후 4일되어 효모농도는 최대로 증가하여 35.9~43g/L로 되었는데, 상기 농도는 회분식 발효조의 최대농도인 9.0~12.0g/L(15)의 약 4배에 해당하는 높은 효모농도의 값을 얻었다. 정상상태에서 발효기내의 효모농도는 34.9~36.3g/L였다. 운전 8일되어 포도당용액 유량을 52mℓ/hr되게 증대시켜 희석율이 0.17hr^{-1}로 유지할 경우 정상상태에서 발효기내의 효모농도는 32.7~36.4g/L로 희석율 0.1hr^{-1}인 경우의 효모농도와 비슷하였다. 운전 15일이 되어 포도당 유량을 77mℓ/hr로 증대하여 희석율이 0.26hr^{-1}되게 운전할 경우 정상상태에서 탑형발효기내 효모농도는 23.1~26.7g/L로 희석율 0.17hr^{-1}인 경우의 효모농도보다 감소하였다. 운전 20일되어 포도당용액 유량을 92mℓ/hr 되게 공급하여 희석율이 0.31hr^{-1} 되게 운전할 경우 정상상태에서 탑형발효기내의 효모농도는 14.0~15.6g/L로 감소하였다. 탑형발효기 내부 및 출구의 효모농도를 이용하여 효모 재순환율을 다음과 같이 계산하여 Fig. 4에 도시하였다.

$$\text{효모 재순환율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{발효기 출구효모농도}}{\text{발효기 내부효모농도}}\right) \times 100$$

Fig. 4에 의하면 효모재순환율은 희석율 0.1~0.3hr^{-1} 범위에서 거의 일정하게 86~89%를 유지하였으며, 연속발효중에 발효기 내부에 설치된 baffle은 고결 현상이 없이 배출되는 용액중의 효모가 발

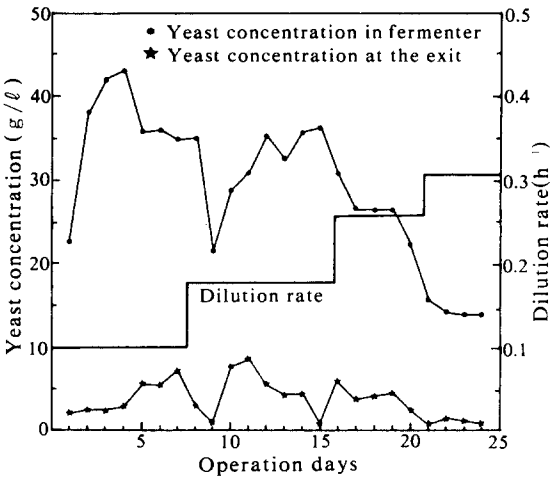


Fig 3. Yeast concentration vs. operation days.

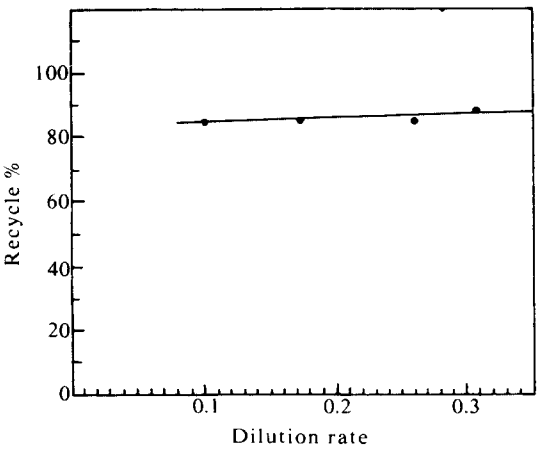


Fig 4. Recycle % versus dilution rate.

효기 내부로 재순환되도록 작동하여 효모농도를 증대하였다.

희석율 영향

탑형발효기에서 희석율변화에 따른 영향을 검토하기 위하여 희석율 변화에 따른 발효기 출구에서 포도당과 에탄올 농도를 분석하여 Fig. 5에 도시하였다. 13.7%(w/v)포도당용액을 0.1hr^{-1}되게 공급하여 정상상태에서 탑형발효기 출구의 에탄올농도는 62.5g/L이고 포도당 농도는 2.0g/L였고, 희석율 0.17hr^{-1}에서 에탄올 농도는 63.0g/L이고 포도당농도는 2.0g/L였다. 포도당용액을 희석율 0.26hr^{-1}되게 공급하여 정상상태에서 탑형발효기 출구의 에탄올농도는 57.6g/L이고 포도당은 13.0g/L였고, 희석율 0.31hr^{-1}에서 에탄올 농도는 42.0g/L이고 포도당은 42.0g/L였다. 유량을 증대하면 발효조 출구의 에탄올 농도는 감소하나, 에탄올 생산성은 에탄올 농도와 희석율의 곱이어서 wash out가 생기지 않는 범위에서 에탄올 생산성은 증대하였다. 탑형발효기에서 희석율 0.11~0.31hr^{-1} 범위에서 에탄올 농도, 포도당 농도, 발효기내 효모농도 및 에탄올 생산성을 Fig. 6에 도시하였는데, 최대에탄올 생산성은 희석율 0.26hr^{-1}에서 14.75g ETOH/L.hr였다.

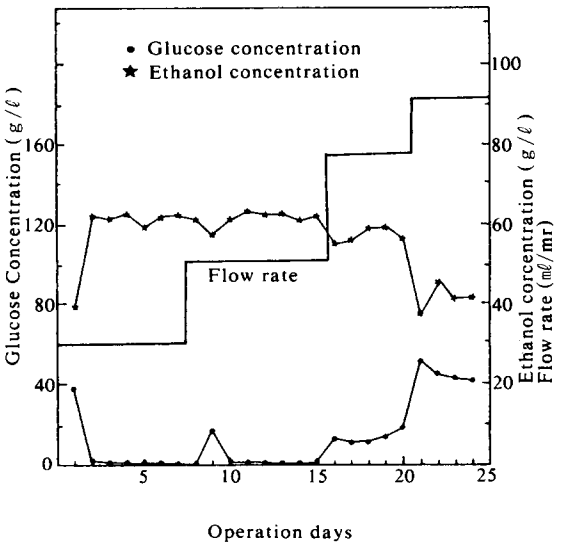


Fig 5. Ethanol and glucose concentration vs. operation days.

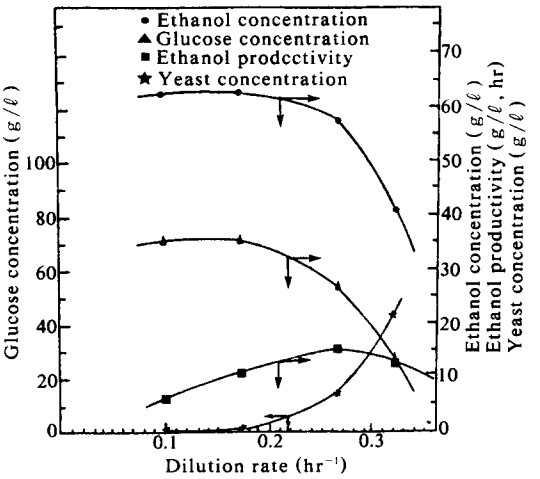


Fig 6. Ethanol, glucose yeast concentration and ethanol productivity versus dilution rate.

에탄올 생산성

발효기 상부로 갈수록 단면적이 증가하게 제작하고 baffle을 설치한 탑형발효기에서 13.7%(w/v)포도당용액을 공급한 경우 희석율 0.17hr^{-1}에서의 에탄올생산성은 11.04g/L. hr이고, 희석율 0.26hr^{-1}에서는 에탄올 생산성이 14.75g/L. hr였다. 본 실험결과를 다른 형태의 발효기와 비교하여 Table 2에 나타내었다. 본 실험의 에탄올 생산성은 효모를 재순환하는 CSTF보다 낮으나, 효모를 원심분리하지 않아도 되므로 운전이 용이하고 장치가 간단한 장점을 지닌다. 또한 탑형발효기에 의한 에탄올 생산성은 효모를 고정화한 탑형 발효기의 생산성보다 일반적으로 높다. 본 실험의 cone형태 탑형발효기와 다른 종류의 탑형발효기와 에탄올 생산성을 비교시 Prince(5)등에 의한 실험결과의 에탄올 생산성보다 낮으나 Jones(7)등에 의한 에탄올 생산성보다 높으므로 cone형태 탑형발효기는 충분한 경제적 이점을 갖는 것으로 고찰된다.

에탄올과 cell수율 및 운전안전성

정상상태에서 소모된 포도당량과 생성된 에탄올량을 구하여 에탄올 수율을 Fig. 7에 나타내었다. 본 실험에서 에탄올 수율은 0.446~0.472g ETOH/g Glucose로 이론적 에탄올수율의 87~92%였다. cone형태 탑형발효기에서 에탄올수율은 회분식발효조의 에탄올 수율 0.44~0.45g ETOH/g Glucose (19)보다 약간 높은 값을 나타내었는데, 이는 회분식보다 에탄올 생산이 효과적으로 수행된다는 것을 의미한다.

Table 1. Comparison of ethanal productivities.

System	Dilution rate(hr^{-1}) based o		Ethanal productivity (g/l · hr) based on		Ethanol concentration (g/l) at steady state	Reference
	Liquid V	Total V	Liquid V	Total V		
CSTF		0.13		4.1	38.0	16
CSTF with cell recycle		0.30		18.3	60.0	16
Immobilized cells						
Ca-Alginate gel	0.50	0.16	29.9	9.57	59.7	17
Wood chip	0.59	0.23	32.55	12.69	54.9	18
Tower fermentor		0.27		26.5	51.4	5
		0.196		11.7	59.7	7
Cone type		0.17		11.04	63.7	This report
		0.26		14.75	57.5	〃

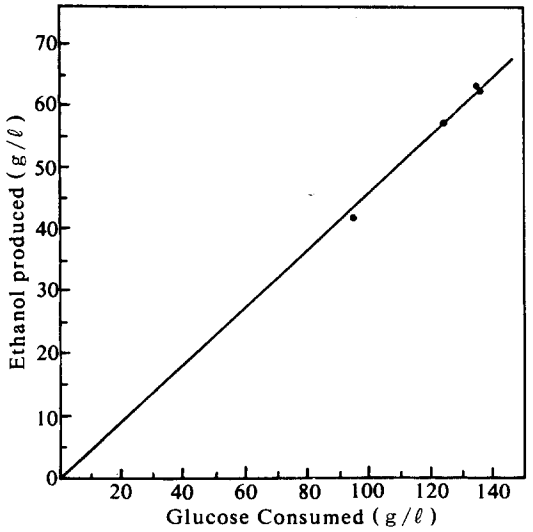


Fig 7. Ethanol produced versus glucose consumed.

정상상태에서 탑형발효기에서 배출되는 효모는 생성되는 효모와 동일하다는 가정하에서 효모수율을 발효기 출구에서 효모농도와 소모된 포도당량으로부터 구하여 Table 2에 나타내였다. 탑형발효기에서

Table 2. Cell yield.

Consumed glucose (g/l)	Outlet cell (g/l)	Cell yield (g cell/g glucose)
135.0	5.3	0.039
135.0	4.8	0.036
124.0	3.9	0.031
94.2	1.5	0.016

효모수율은 0.016~0.039g yeast/g glucose로서, 회분식 발효조 경우의 0.087~0.089값(19)보다 매우 낮다. 상기사실로부터 효모 농도가 높은 탑형발효기에서 효모성장속도가 느려지는 현상을 발견할 수 있었다.

본 실험의 탑형발효기를 이용하여 24일동안 연속적으로 에탄올 발효를 수행하였으나 효모 floc등에 의한 고결 및 편류 현상은 발견되지 않고 매우 안정적으로 연속운전이 가능하였다.

결 론

Cone형태 탑형발효기에서 연속발효 실험을 수행하여 공급유량에 따른 에탄올 생산성, 효모분리능 및 운전안전성을 관찰하여 운전특성을 연구하였다. Cone형태 탑형발효기에서 효모농도가 매우 크게 증대하여 운전시작 4일되어 35.9~43.0g/L로 되었다. 탑형발효기에서 희석율 0.11~0.31hr^{-1}에서 wash-out 현상이 없이 안정적으로 운전되었는데 최대에탄올 생산성은 희석율 0.26hr^{-1}에서 14.75g ETOH/L. hr였다. 상기 실험결과로 부터 cone형태 탑형발효기는 에탄올 연속 생산시 충분한 경제적 이점을 갖는 매우 효과적인 발효기로 사료되었다.

감 사

본 연구는 1990년도 문교부지원 학술진흥재단의 지방대육성 학술연구 조성비에 의하여 연구되었으며 이에 대하여 감사드립니다.

참고문헌

1. H. Slesser and C. Lewis (1979) Biological Energy Resourceses, 1st ed. John Wiley & Sons, N. Y.
2. D. Kosaric, I. Russel and G. S. Stewart (1980), Advances in Microbiology, Vol **26**, 147, Academic Press.
3. B. L. Marrorella, H. W. Blanch, and C. R. Wilke (1984) Biotechnol. Bioeng., **26**, 1003.
4. T. K. Ghose and R. D. Tyagi (1979) Biotechnol. Bioeng., **21**, 1387.
5. I. G. Prince, and J. P. Barford (1982), Biotechnol. Letter, **4**, 263.
6. I. G. Prince, and J. P. Barford (1982), Biotechnol. Letter, **4**, 621.
7. S. T. Jones, and R. A. Korus (1980), Biotechnol. Bioeng., **26**, 742.
8. O. Netto, and G. Goma (1988) Biotechnol. Bioeng., **30**, 320.
9. M. Hamamci, and D. Y. Ryu (1987) Biotechnol. Bioeng, **29**, 994.
10. M. K. Gowthaman, S. K. Rakahit and A. Bnaradarajan (1990), Proc. AP Biochec '90, 521.
11. G. R. Cysewski, and C. R. Wilke (1980), Biotechnol. Bioeng, **19**, 1125.
12. S. Furusdaki, M. Seiki, and K. Fukumura (1983), Biotechnol. Bioeng., **25**, 2921.
13. E. Forouhi, and D. J. Gunm (1983) Biotechnol. Bioeng., **25**, 1905.
14. G. I. Miller (1959), Anal. Chem., **31**, 426.
15. R. P. Tyagi, and K. Ghose (1982) Biotechnol. Bioeng., **24**, 781.
16. T. K. Ghose, and R. P. Tyagi (1979) Biotechnol. Bioeng., **21**, 1387.
17. M. Nagashima, M. Azoma, and S. Noguchi (1985), Biotechnol. Bioeng., **27**, 217.
18. M. A. Gencer and R. Mutharasam (1983), Biotechnol. Bioeng., **25**, 2243.
19. R. D. Tyagi and T. K. Ghose (1980), Biotechnol. Bioeng., **22**, 1907.