

수성이상계 에탄올 추출발효 조건의 최적화에 관한 연구

김진한* · 허병기¹ · 목영일²

인천전문대학 환경공업과, ¹인하대학교 공과대학 생물공학과,

²아주대학교 공과대학 화학공학과

Optimization of Conditions for Extractive Ethanol Fermentation in an Aqueous Two Phase System

Kim, Jin-Han*, Byung-Ki Hur¹ and Young-Il Mok²

Department of Environmental Technology, Junior College of Incheon

¹Department of Biological Engineering, Inha University

²Department of Chemical Engineering, Ajou University

Abstract — This study was undertaken with objective of optimizing the conditions of fermentation in an aqueous two-phase system which is composed of polyethylene glycol (PEG) 20000 and crude dextran (Dx). The data were obtained and analyzed using the Box-Wilson's experimental design protocol and the response surface methodology. To reach this end a multilinear polynomial regression model was developed, which can be utilized for the purpose of optimizing the extractive fermentation. Optimum conditions for batch fermentation with aqueous two phase system were found to be at 4.2~5.4% PEG/3.2~4.2% Dx range. The composition of the center was 4.8% PEG/3.6% Dx. Optimum operating conditions for initial sugar concentration and fermentation time were approximately 160 g/l, and 21~22 hr, respectively. Fermentation in the aqueous two phase system composed of 5% PEG/4% Dx showed increase of 23% in ethanol concentration, of 9.5% in ethanol yield, and of 19% in ethanol productivity as compared to the case of fermentation of neat Jerusalem artichoke juice.

바이오매스를 이용한 에탄올 발효계는 고농도 기질 및 에탄올에 의한 균체증식 및 에탄올 생산의 저해 영향(1)으로 인하여 에탄올 생산성이 낮고, 또한 묽은 기질용액을 사용하여 발효하게 되므로 최종알콜 농도가 낮다. 이것은 결과적으로 요구되는 발효생산량에 대한 초기투자비 및 운전비의 상승요인이 된다.

에탄올 생산공정에서 운전비와 투자비를 저감하기 위한 요건으로서 공정의 연속화, 조작의 단순성, 낮은 에너지 투입, 거의 완전한 당의 전화, 높은 생산성과 기계적인 단순성 등이 제시되었다(2). 수성이상계(aqueous two-phase system) 추출공정은 이러한 조건들을 대부분 충족시킨다. 수성이상계는 작은 에너지로도 큰 표면적의 에멀전이 쉽게 생성, 유지되며 생물반응에 적합한 환경을 제공하고 제품수율이 높다. 또한 Scale-up이 용이하고 연속공정이 가능할 뿐만

아니라 반응공정과 분리공정의 집적화가 가능하다. 수성이상계는 용수량이 작고 처리할 폐수량을 최소화할 수 있으므로 환경영향에 대한 엄격한 규제를 충족할 수 있다(3-7).

공정의 경제성을 높이기 위한 최적 반응조건과 최적 운전조건의 결정은 여러가지 요인들의 상호작용 때문에 복잡해지며 많은 시간과 노력을 필요로 한다. 적절한 통계적 기법을 이용하면 처리량이 관리할 수 있는 수준으로 줄어들어 비교적 용이하게 된다. 통계적 기법들중 반응표면분석법(response surface analysis)은 실험실 또는 파일로트 규모에서 적은 횟수의 실험으로써 회귀식을 얻고, 그 식의 적합결여를 추정할 수 있으므로 다변수(Multifactor)시스템의 최적화에 많이 이용된다(8, 9). Bowman과 Geiger(10), Zertuche와 Zall(11)은 에탄올 발효에서 운전조건들이 에탄올 수율에 미치는 영향을 정량화하고 반응표면 분석에 의하여 에탄올 생산조건을 최적화하였다. Marwaha 등(18)은 충전층 반응기에서 에탄올 생산에

Key words: Optimization, fermentation conditions aqueous two phase System

*Corresponding author

영향을 미치는 인자들 사이의 함수관계를 비선형 회귀식으로 구하고, 이것을 이용하여 반응기 안정성, 운전의 적합성 및 최적공정조건을 결정하였다.

수성이상계의 최적화와 관련된 연구들(12-14)은 이상계 구성성분의 농도를 고정하고 분자량을 변화시키거나, 분자량 및 이상계 구성성분중 하나의 농도를 고정하고 다른 성분의 농도를 변화시켜 실험함으로써 적정 이상계를 선정하였다. 그러나 다변수시스템에서 1회 실험에 하나의 변수를 조사하여 최적 조건을 선정하는 것에 대한 취약점은 이미 보고된 바 있다(8, 9). 그리고 수성이상계에서 알콜의 추출발효에 대한 이상계 구성성분의 영향이나 최적 이상계의 선정에 관한 연구도 찾아보기 어려운 상태이다.

본 연구에서는 Polyethylene Glycol(PEG)과 crude Dextran(Dx)으로 구성된 수성이상계의 에탄올 추출 발효에서 반응표면분석법에 의하여 공정변수가 발효 특성치에 미치는 영향을 함수관계로 구명함으로써 에탄올발효에 적합한 이상계 조성 및 발효조건을 최적화하는데 목적을 두었다. 본 연구의 목적에 도달하기 위하여 공정의 경제성 향상 즉, 투자비 및 운전비의 최소화와 관련하여 에탄올 생산성과 수율에 영향을 주는 요인으로서 초기당농도와 발효시간을, 그리고 수성이상계 구성요소로서 에탄올 발효환경이 되며 이상계의 분배특성에 영향을 주는 PEG 농도와 Dx 농도를 공정변수로 선정하였다.

재료 및 방법

실험계획

PEG 농도, Dx 농도, 초기 당농도 및 발효시간 등을 독립변수로 하고 Box-Wilson 회전중심합성계획(8, 9)에 따라 4인자 5수준의 실험을 계획하였다. 반응표면분석에서 실험수준치의 크기에 따른 영향을 제거하고 실험의 배분이나 해석을 간단히 하기 위하여 실험수준의 간격 단위가 1이 되도록 독립변수들을 Table 1과 같이 선형변환하여 실험수준치로 표준화하였다. 반응표면분석 결과의 정확도를 높이기 위하여 필요하다고 생각되는 초기 당농도 및 발효시간에 대한 실험점 셋트들을 추가하여 총 630개의 실험점 셋트로 구성하였다. 또한 임계점 근방의 조성을 가진 1개의 단일상계 및 PEG-Dx을 첨가하지 않고 돼지감자 주스만을 이용한 대조실험을 동시에 수행하여 13종의 수성이상계 실험결과와 비교하였다. 실험에서 PEG 분자량은 알콜생산에 유리한 것으로 보고(15)된 PEG 20000을 사용하였고, 반응표면분석의 종속변수로는 에탄올 수율, 에탄올 생산성, 에탄올 농도 등을 조사

Table 1. Values of the process variables in this experiment

Process variables	Level values				
	-2	-1	0	1	2
Conc. of S ₀ (g/l)	40	80	120	160	200
Conc. of PEG (% w/v)	2.0	3.5	5.0	6.5	8.0
Conc. of Dx (% w/v)	1.0	2.5	4.0	5.5	7.0
Fermentation Time (hr)	8	12	16	20	24

하였다.

균주 및 발효기질

본 실험의 균주는 *Kluyveromyces fragilis* CBS 1555이며, YM 배지에서 35°C, 20시간 진탕 배양하고 4시간 침강시켜 얻은 농축균체를 접종용 균체로 사용하였다. 발효 기질은 허 등(16)의 방법으로 처리하여 얻은 총당 농도 120 g/l의 돼지감자 주스이었다. 실험에 사용한 PEG 20000/Dx 이상계 기질용액은 모두 250 ml로 하였으며 김 등(15)과 같은 방법으로 기질용액과 물의 첨가량을 달리하여 Table 1의 농도조합에 따라 조제하였다.

발효실험 및 시료의 분석

삼각플라스크(500 ml) 내의 이상계 기질용액 250 ml에 농축균체를 2.0 ml 씩 접종하고 회전식 진탕배양기에서 온도 35°C, 회전수 150 rpm로 진탕 배양하였다. 실험기질용액중 균체의 초기농도는 0.5 g/l이었다. 발효 시작후 12시간까지는 2시간 간격으로 그 이후는 4시간 간격으로 28시간까지 실험용액을 혼합하면서 주사기로 12 ml 씩 시료를 채취하였다. 채취한 시료를 잘 혼합하고 1 ml를 분취하여 전체상의 에탄올 농도를, 그리고 상분리 후 윗상(PEG-rich upper phase)의 시료를 채취하여 윗상의 에탄올 농도를 측정하였다. 윗상과 전체상의 에탄올농도 측정은 n-propanol을 내 표준물질로 하여 김 등(15)의 분석조건에서 가스크로마토그래피(HP 5890A)로 분석하였다. 에탄올 측정용 시료는 각 상에 대하여 분석용 저울로 0.500 g을 평량하고 여기에 2 g(n-propanol)/l 용액 10 ml를 넣어 조제하였다.

에탄올 생산성과 수율의 계산

에탄올 생산성(Q g/l·hr)은 식(1)에 의하여 계산하

였다.

$$Q_{oPmax} = \frac{P_{omax} - P_{o0}}{t_{Pmax}} \quad (1a)$$

$$Q_{uPmax} = \frac{P_{umax} - P_{u0}}{t_{Pmax}} \quad (1b)$$

$$Q_{ot} = \frac{P_{ot} - P_{o0}}{t} \quad (1c)$$

$$Q_{ut} = \frac{P_{ut} - P_{u0}}{t} \quad (1d)$$

$$Q_{dP,max} = \frac{dP_{ot}}{dt} \quad (1e)$$

여기에서 Q_{oPmax} , Q_{uPmax} 는 각각 발효기간중 에탄올 농도가 최대인 시간, t_{Pmax} 에서 전체상과 윗상의 총괄 에탄올생산성이며, Q_{ot} , Q_{ut} 는 각각 발효시간 t 에서 전체상과 윗상의 에탄올 생산성이다. P_{u0} 와 P_{o0} 는 각각 발효시간 $t=0$ 에서 윗상 및 전체상의 에탄올 농도이고 P_{ot} , P_{ut} 는 발효시간 $t=t$ 에서 측정된 전체상과 윗상의 에탄올 농도이며, P_{omax} , P_{umax} 는 각각 P_{ot} , P_{ut} 의 최대치이다. $Q_{dP,max}$ 는 순간 최대에탄올 생성속도(maximum differential ethanol production rate)를 나타내며 전체상 에탄올 농도를 발효시간, t 에 대하여 회귀분석하여 얻은 n 차 다항식의 미분값(= dP_o/dt)들 중 최대치이다. 회귀분석으로 얻어진 식의 차수는 6~8 차이였고 결정계수, R^2 는 0.99 이상이었다.

에탄올 수율(percentage of theoretical ethanol yield, $Y\%$)은 식(2)에 의하여 계산하였다.

$$Y_o = 100 \frac{P_{ot} - P_{o0}}{S_0 (92/180)} \quad (2a)$$

$$Y_u = 100 \frac{P_{ut} - P_{u0}}{S_0 (92/180)} \quad (2b)$$

여기에서 Y_o , Y_u 는 각각 윗상 및 전체상에서의 에탄올 수율이다. S_0 는 초기 당농도이고 92/180는 fructose나 glucose 1 mole로부터 얻어질 수 있는 양론적(stoichiometric)인 에탄올의 질량이다.

결과 및 고찰

회귀분석

전체상과 윗상에 대한 에탄올 수율, 에탄올 생산성 및 에탄올 농도를 각각 종속변수로 하고 Table 1의 공정변수 및 이들의 교호작용의 수준치를 독립변수

값으로 하여 이들 사이의 함수관계를 최소자승법에 의하여 2차 다항 중회귀모델로 구하였다. P 값, R^2 , 표준오차, 잔차자승평균 등의 분산분석 및 F-검정 결과로부터 유의하지 않은 독립변수항들은 최종회귀 모델에서 제외하였다. 본 연구에서 얻어진 최종회귀 분석 결과를 기초로 하고 Table 1의 공정변수들의 실제 값의 함수로 다시 변환하면 에탄올 생산성, 수율 및 에탄올 농도에 대한 최종회귀모델은 식(3)으로 표현된다. 식(3)에서 S_0 , C_{PEG} , C_{Dx} , t 는 각각 공정변수들인 초기 당농도, PEG 농도, Dx 농도 발효시간이고 η 는 에탄올생산성, 수율 또는 에탄올농도 등의 종속변수이며, 각 항의 회귀계수는 Table 2와 같다.

$$\eta = \text{constant} + \alpha_1 S_0 + \alpha_2 C_{PEG} + \alpha_3 C_{Dx} + \alpha_4 t + \alpha_5 S_0^2 + \alpha_6 C_{PEG}^2 + \alpha_7 C_{Dx}^2 + \alpha_8 t^2 + \alpha_9 S_0 C_{PEG} + \alpha_{10} S_0 C_{Dx} + \alpha_{11} S_0 t + \alpha_{12} C_{PEG} C_{Dx} + \alpha_{13} C_{Dx} t \quad (3)$$

Fig. 1은 전체상 에탄올 농도, P_{ot} 에 대한 회귀모델의 예측치와 실험치 사이의 상관관계를 나타낸 것이며 결정계수, R^2 는 0.9760이고 또한 F검정 결과에 의하면 위험률 1%로 회귀변동이 대단히 유의하다. 이와 같은 상관관계는 위에서 나타난 모든 종속변수에 대하여도 유사하였다. Table 2의 계수로 표현되는 식(3)은 에탄올 생산성, 수율 또는 에탄올 농도와 공정변수인 초기 당농도, PEG 농도, Dx 농도, 발효시간과의 사이에 정량적인 함수관계를 잘 표현하고 있다고 하겠다. 본 연구에서는 이 함수식을 이용하여 수성이상계 에탄올 추출발효에서 이상계의 조성 및 운전조건을 최적화하였다.

수성이상계 조성의 최적화

수성이상계의 구성에 있어서 고분자의 분자량이 클수록 이상계의 조제에 요구되는 농도가 감소하며 두 고분자 사이의 분자량 차이가 클수록 상의 평형 선도(binodial)가 비대칭적으로 되는 것으로 알려졌다(3). 또한 에탄올 생산에 있어서 높은 분자량의 PEG를 사용하는 것이 유리한 것으로 밝혀졌다(15). 수성이상계에서 에탄올 생산의 경제성 향상에서 중요한 요소중의 하나는 에탄올 생산에 유리한 환경을 제공하고 또한 이상계 구성 고분자의 사용량을 극소화하는 것이라 할 수 있다. 이와 같은 조건의 이상계를 사용함으로써 PEG 농도와 Dx 농도 및 발효시간 등이 크게 감소하며, 에탄올 생산성과 에탄올 수율을 극대화할 수 있게 된다.

Fig. 2는 PEG 20000/crude dextran으로 이루어진 수성이상계 에탄올 추출발효에서 최적인 PEG/Dx의 조성을 나타낸 것이다. 이것은 윗상 및 전체상의 총괄

Table 2. Results for regression and analysis of variance

Variables	Q_{oPmax}	Q_{uPmax}	$Q_{dP,max}$	Q_{ot}	Q_{ut}
Constant	-0.3440	-0.4540	-0.2783	-2.760	-0.3061
S_0	0.02486	0.02555	0.05591	0.005552	0.005739
C_{PEG}	0.09474	0.1035	0.2368	0.08509	0.1104
C_{Dx}	0.05059	0.09149	0.1548	0.06410	0.09925
t	-	-	-	0.5550	0.5820
S_0^2	-0.0004731	-0.0004697	-0.001983	-0.001316	-0.001365
C_{PEG}^2	-0.009009	-0.009661	-0.01914	-0.008372	-0.01070
C_{Dx}^2	-0.005726	-0.008998	-0.01545	-0.008312	-0.01005
t^2	-	-	-	-0.02488	-0.02605
S_0t	-	-	-	0.002094	0.002191
$C_{PEG}C_{Dx}$	-0.003713	-0.003901	-0.001135	-0.003529	-0.003767
Model, R^2	0.9767	0.9779	0.8996	0.9291	0.9281
F-ratio	371.518	463.606	94.093	444.273	487.513

Variables	Y_u	Y_o	P_{ut}	P_{ot}
Constant	-140.46	-130.88	-78.562	-75.193
S_0	-0.5666	-0.5462	-0.1317	-0.1185
C_{PEG}	2.105	1.848	1.797	1.378
C_{Dx}	2.447	1.037	1.607	1.479
t	26.01	25.02	10.173	9.896
S_0^2	-0.01055	-0.009823	-0.02031	-0.01961
C_{PEG}^2	-0.2534	-0.1962	-0.1717	-0.1335
C_{Dx}^2	-0.2583	-0.2173	-0.1609	-0.1315
t^2	-0.7443	-0.7145	-0.3643	-0.3492
S_0C_{PEG}	0.0030436	-	-	-
S_0C_{Dx}	-	0.003603	-	-
S_0t	0.03384	0.03183	0.04892	0.04640
$C_{PEG}C_{Dx}$	-0.07613	-0.06577	-0.06399	-0.05988
$C_{Dx}t$	-	-	-	-0.02745
Model, R^2	0.9620	0.9629	0.9753	0.9760
F-ratio	857.897	796.513	1491.19	1247.06

에탄올 생산성(Q_{oPmax} , Q_{uPmax}), 순간 최대 에탄올생성 속도($Q_{dP,max}$) 등이 최대치를 보이는 초기 당농도에서 최대치의 98% 이상이 되는 영역의 등고선을 중첩시켜 구한 것이다. 즉, $S_0=200$ g/l에서 $Q_{oPmax} \geq 3.06$ g/l·hr, $S_0=160$ g/l에서 $Q_{uPmax} \geq 2.88$ g/l·hr, $S_0=120$ g/l에서 $Q_{dP,max} \geq 4.53$ g/l·hr인 영역으로부터 이들이 모두 중첩되는 영역은 PEG 농도 4.2~5.4%, Dx 농도 3.2~4.2% 범위의 농도인 것으로 나타났다. 그리고 중심점에 해당하는 이상계 조성은 4.8% PEG/3.6% Dx이었다. Fig. 2에서 보인 중심점의 PEG/Dx 조성은 식(3) 및 Table 2에 의하여 표현되는 회귀모델로부터 Y_{up} , Y_{ovr} , Q_{ut} , Q_{ot} , P_{ut} 및 P_{ot} 등에 대한 최대치의 95% 이상이

되는 등고선의 PEG/Dx 농도 범위에 포함되어 있었다. 또한 비증식속도 및 에탄올 비생성속도를 극대화하는 영역의 조성범위에도 포함되었다. 본 연구의 종속변수에 대한 공정변수의 범위내에서 에탄올 발효에 최적인 수성이상계의 조성범위는 4.2~5.4% PEG/3.2~4.2% Dx이라는 것을 알 수 있었다.

PEG/Dx 이상계에서 PEG 농도 및 Dx 농도를 높이면 에탄올 분배계수는 증가(6)하여 분리회수에 유리한 조건으로 된다. 그러나 PEG 농도가 높을수록 발효중에 생성되는 에탄올량이 감소한다는 연구결과(15)와 관련하여 보면, PEG 농도 증가에 기인한 삼투환경의 변화는 균체의 성장을 저해함으로써 에

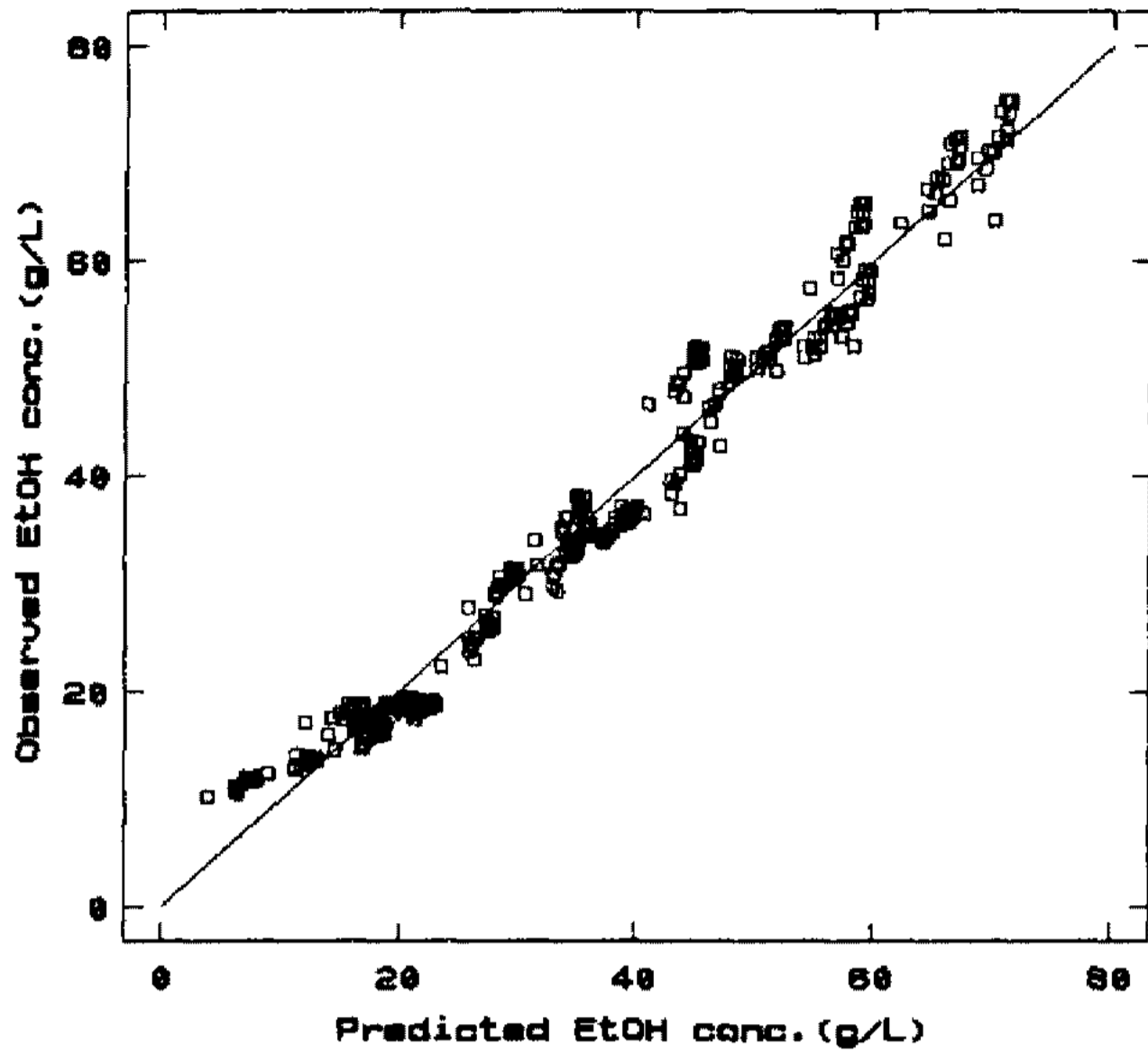


Fig. 1. Correlation of the predicted ethanol concentrations to the observed ones.

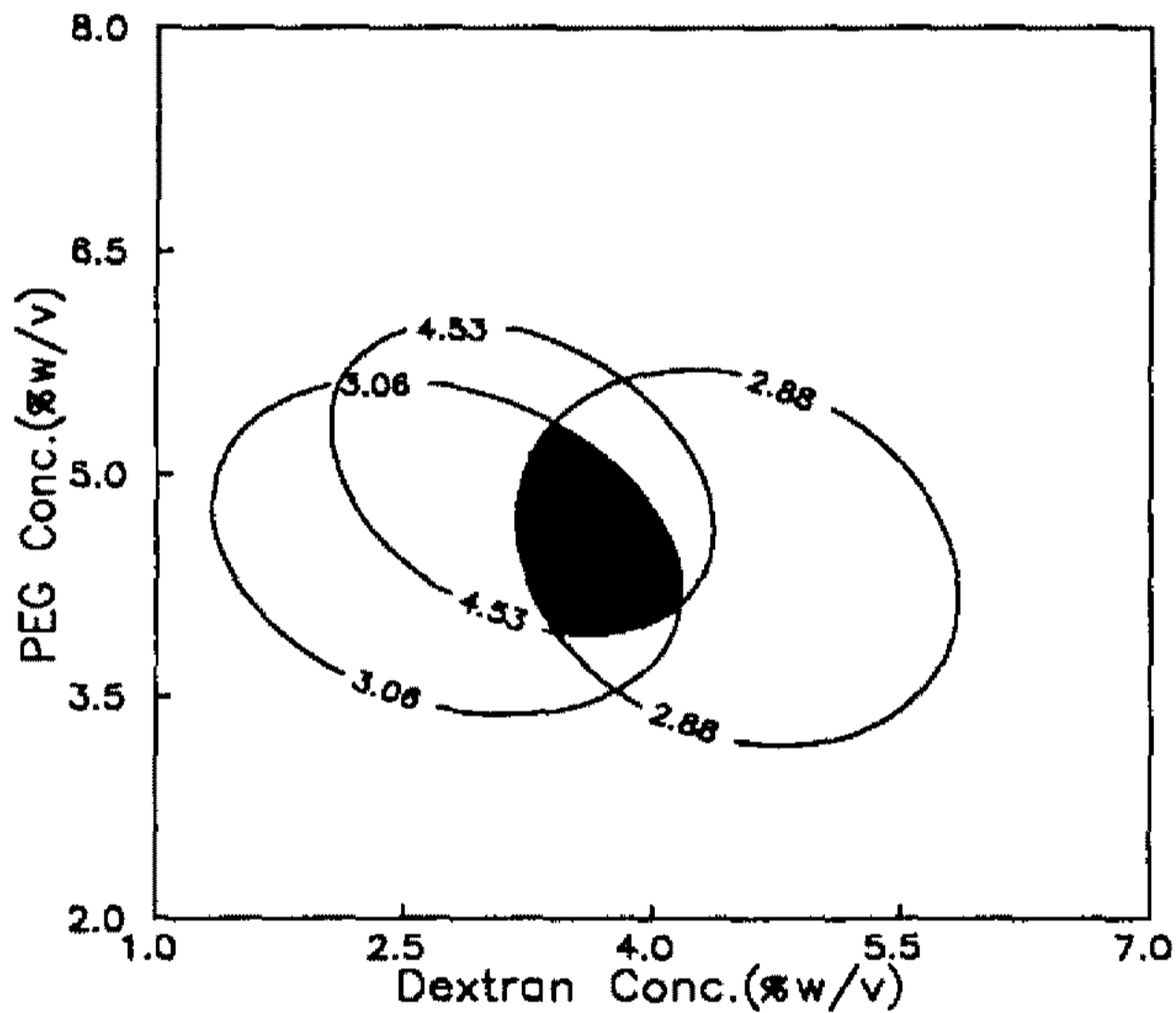


Fig. 2. Plot of the overlapped contours of $Q_{op,max}$, $Q_{uP,max}$, $Q_{dP,max}$ for finding optimum composition of aqueous two phase system composed of PEG 20000/crude Dx: PEG conc. vs Dx conc.

탄을 발효에 악영향을 주는 것으로 생각된다. 에탄올의 분리회수에 유리한 조건이라고 하더라도 에탄올 발효에 유리하다고 볼 수는 없는 것이다.

운전조건의 최적화

에탄올 발효에서 낮은 초기당농도의 기질용액을 사용하거나 발효시간을 길게 하면 에탄올 수율을 높일 수 있다. 그러나 요구되는 발효용량에 대한 투자비의 상승과 낮은 에탄올 농도에 기인한 분리비용의 상승은 불가피하게 되고, 결국 그것은 비경제적인 운전요인이

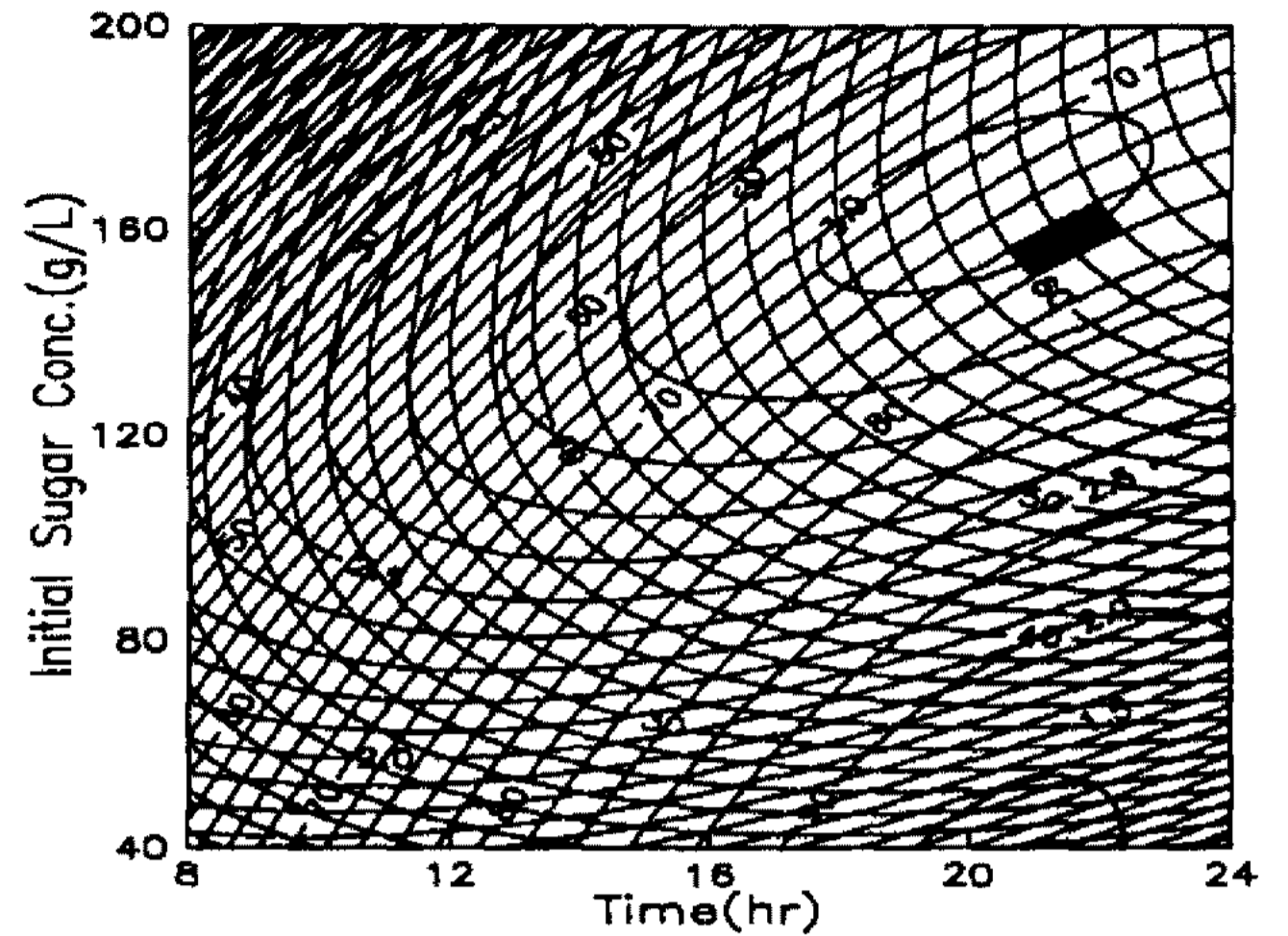


Fig. 3. Plot of the overlapped contours of ethanol productivity, ethanol concentration and ethanol yield for finding optimum operation conditions in the aqueous two phase system composed of 5% PEG 20000/4% crude Dx: Initial sugar concentration vs Time.

된다. 본 연구에서는 추출발효의 운전조건으로서 초기 당농도와 발효시간을 최적화하였다.

최적 PEG 농도와 Dx 농도를 이용하고, 식(3)과 Table 2로 표현되는 Y_u , Y_o , Q_{ut} , Q_{ot} , P_{ut} 및 P_{ot} 등의 회귀모델을 초기당농도와 발효시간의 함수로 구하여, 이들로부터 수성이상계 에탄올 추출발효에 최적인 운전조건을 결정하였다.

Fig. 3은 5% PEG/4% Dx 이상계의 전체상에 대한 에탄올 농도(P_{ot}), 에탄올 생산성(Q_{ot}) 및 에탄올 수율(Y_o)을 초기 당농도와 발효시간의 함수로서 중첩하여 나타낸 것이다. Fig. 3에서 (a) $S_0=80$ g/l, $t=16$ hr일 때 $P_{ot}=36$ g/l, $Q_{ot}=2.34$ g/l·hr, $Y_o=82.8\%$ (b) $S_0=120$ g/l, $t=21.5$ hr일 때 $P_{ot}=54.4$ g/l, $Q_{ot}=2.69$ g/l·hr, $Y_o=85.2\%$ (c) $S_0=160$ g/l, $t=21.5$ hr일 때 $P_{ot}=62.8$ g/l, $Q_{ot}=3.0$ g/l·hr, $Y_o=77\%$ (d) $S_0=160$ g/l, $t=24$ hr일 때 $P_{ot}=67$ g/l, $Q_{ot}=2.93$ g/l·hr, $Y_o=79.5\%$ 등 4가지의 경우를 비교하여 보면 (c)의 경우가 가장 유리하다는 것을 알 수 있다. (a)에 비하여 (b)와 (c)는 발효시간이 34.4% 증가하였지만 (b)는 (a)에 비하여 P_{ot} , Q_{ot} , Y_o 가 각각 51.1%, 15%, 2.9% 증가하였고 (c)는 (a)에 비하여 P_{ot} , Q_{ot} 가 각각 74.4%, 28% 증가하였고 Y_o 는 7% 감소하는데 불과하였다. 또한 (c)는 (b)에 비하여 Y_o 가 9.6% 감소하였으나 P_{ot} 와 Q_{ot} 는 각각 15.4%, 11.5% 증가하였다. (d)는 (c)에 비하여 발효시간이 11.6% 증가되었으나 Q_{ot} 는 2.3% 감소하였고, P_{ot} 와 Y_o 가 각각 6.7%, 3.2% 증가하는데 불과하였다. 따라서 발효시간을 21.5 hr 이상으로 발효공정을 운전하는 것은 더 이상 효율적이지 않다라는 것을 알

Table 3. Fermentation characteristics within the optimal operation conditions for the various systems

System %PEG/%Dx	S ₀ g/l	t hr	P _{ot} g/l	Q _{ot} g/l·hr	Y _o %	P _{ut} g/l	Q _{ut} g/l·hr	Y _u %
8/1	150-168	20.6-22.8	61-64	2.91-2.96	73-77	61-65	2.94-2.98	74-78
8/4	155-167	21.0-22.5	60-63	2.84-2.9	74-77	64-66	3.02-3.04	77-78
8/7	156-170	21.1-22.7	56-59	2.7 -2.74	69-71	63-66	2.92-2.96	74-76
6.5/2.5	153-164	20.9-22.2	59-64	2.94-2.98	76-79	64-66	3.1 -3.12	79-80
6.5/5.5	155-165	21.1-22.4	59-62	2.88-2.92	73-76	65-67	3.08-3.12	79-81
5/1	154-163	20.9-22.2	60-64	2.95-3.0	74-78	63-65	3.06-3.07	78-79
5/4	155-164	21 -22	61-63	2.98-3.0	76-78	64-66	3.14-3.17	81-83
5/7	154-168	20.9-22.7	57-62	2.84-2.90	70-75	64-69	3.06-3.11	77-81
3.5/1	156-161	21.3-21.8	61-63	2.96-2.98	76-77	63-64	3.02-3.04	78-79
3.5/2.5	155-162	21 -22.1	61-64	2.96-3.01	76-79	64-66	3.1 -3.13	79-81
3.5/5.5	157-162	21.3-21.9	60-62	2.94-2.97	74-77	65-67	3.14-3.16	80-82
2/7	155-165	21.1-22.5	58-61	2.84-2.88	72-75	64-68	3.04-3.08	77-80
2/4	153-163	21 -22.2	60-64	2.94-2.98	74-78	63-67	3.08-3.11	79-81
2/1	150-159	21 -22.4	60-63	2.88-2.93	74-77	-	-	-
Control	133-139	20.2-20.9	49-52	2.48-2.52	70-73	-	-	-

수 있다. 이와 같은 방법으로 추적하여 얻은 초기 당농도와 발효시간의 영역을 Fig. 3에 빗금친 부분으로 표시하였다. 마찬가지로 방법으로 본 연구에서 실험된 15종의 이상계 발효에 대하여 최적의 조건의 영역을 구하면 Table 3과 같다. Table 3에서 보는 바와 같이 PEG/Dx 이상계의 조성에 거의 무관하게 발효시간 21~22 hr 및 초기 당농도 160 g/l 근방이 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 또한 최적 운전조건에서 5% PEG/4% Dx 이상계는 돼지감자 주스만을 사용한 대조실험계에 비하여 발효시간이 3.9% 증가하지만 P_{ot}는 약 23% Q_{ot}는 약 19%, Y_o는 약 9.5% 증가하였으며 윗상에 대해서 보면 P_{ut}는 약 29%, Q_{ut}는 약 26%, Y_u는 약 14% 증가하는 것으로 나타났다. 대조실험계에 비하여 수성이상계 추출발효계가 매우 우수하다는 것을 알 수 있었다. 그리고 2% PEG/1% Dx로 조제된 단일상계도 이상계의 결과에 비하면 좋은 결과를 나타내는 것은 아니지만 대조실험계에 비하여 우수하였다. 이것은 에탄올 발효배지에 PEG와 Dx같은 비대사성고분자 물질의 첨가에 의하여 물의 화학포텐셜이 감소함으로써 에탄올생산성 및 수율이 증가된다는 연구결과(17)와 유사하다.

수성이상계 추출발효에서 에탄올의 분리는 증류법(5) 또는 막분리(7)에 의하여 이루어지고, 고분자물질(PEG, Dx)은 재순환되며 이것이 에탄올 분리에 미치는 영향은 크지 않다. 증류법에서 윗상(PEG-rich phase)에 에탄올과 함께 분배된 글리세롤 등 고비점 물질이 증류잔액 중에 축적되어 발효반응을 저해하

지만 이것은 투석에 의하여 해결될 수 있음을 보고 하였다(5). 막분리 공정의 도입은 에탄올 분리에 소요되는 에너지비용을 저감할 뿐만 아니라 공정의 집적화에 유리하며, 막분리공정에서 예상되는 PEG에 의한 오염(fouling)이 없어 에탄올 생산공정의 경제성을 향상시킬 수 있는 것으로 보고되었다(7).

요 약

Polyethylene glycol(PEG)-dextran(Dx)으로 구성된 수성이상계를 사용한 에탄올 추출발효에서 초기 당농도, PEG 농도, Dx 농도, 발효시간을 공정변수로 하여 Box-Wilson 회전중심합성계획법에 의하여 실험을 하고, 이들 공정변수와 에탄올 생산성, 수율 또는 에탄올 농도 등의 반응변수 사이의 함수관계를 2차 다항 중선형 회귀모델로서 표현하였고 에탄올발효에 적합한 이상계 조성 및 운전조건을 최적화함으로써 다음의 결과를 얻었다. 에탄올 생산에 유리한 환경을 제공하며 이상계 구성 고분자의 사용량을 최소화할 수 있는 최적 이상계의 조성은 4.2~5.4% PEG 20000/3.2~4.2% Dx 범위이었고, 그 중심점의 조성은 4.8% PEG/3.6% Dx인 것으로 나타났다. 수성이상계에서 에탄올 농도, 에탄올 수율, 에탄올 생산성이 동시에 높은 최적 초기 당농도 및 발효시간은 각각 160 g/l, 21~22 hr인 것으로 나타났다. 반면에 돼지감자 주스만을 사용한 대조실험계의 최적 초기 당농도 및 발효시간은 각각 136 g/l 및 20.5 hr 근방이었다. 이상

계의 최적조성 근방인 5% PEG/4% Dx 이상계는 대조실험계에 비하여 최적 초기당농도가 17.6% 증가하여도 발효시간은 불과 3.9% 증가하였고 또한 에탄올 농도, 에탄올 수율, 에탄올 생산성은 각각 전체상에 대하여 23%, 9.5%, 19% 증가하였고, 윗상에 대하여는 각각 29%, 14%, 26% 증가하였다.

Nomenclature

- C_{PEG} : Concentration of polyethylene glycol (%w/v)
 C_{Dx} : Concentration of dextran (%w/v)
 P : Concentration of ethanol (g/l)
 Q : Volumetric ethanol productivity (g/l·hr)
 $Q_{dP,max}$: Maximum differential ethanol production rate (g/l·hr)
 S_0 : Initial sugar concentration (g/l)
 t : Fermentation time (hr)
 Y : Percentage of ethanol yield, of theoretical (%)
- Subscript
 u, o : The upper phase, and the overall phase of an aqueous two phase system, respectively.
 0 : Initial value
 max : Maximum value
 P_{max} : Maximum concentration of ethanol

2. Maiorella, B.L., C.R. Wilke, and H.W. Blanch. 1981. *Adv. Biochem. Eng.* **20**: 43-92.
3. Albertsson, P.A. 1971. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*. John Wiley & Sons, New York.
4. Walter, H., D.E. Brooks, and D. Fisher. 1985. *Partitioning in Aqueous Two Phase Systems*. Academic Press, New York.
5. Kuhn, I. 1980. *Biotechnol. Bioeng.* **22**: 2393-2398.
6. Mattiasson, B. 1983. *Trends Biotechnol.* **1**: 16-18.
7. Larsson, M. and B. Mattiasson. 1982. *Ann. NY. Acad. Sci. Enzyme Eng.* **434**: 144-147.
8. Box, G.E.P., W.G. Hunter, and J.S. Hunter. 1978. *Statistics for Experimenters*. John Wiley & Sons, NY.
9. Hendrix, C.D. 1980. *ChemTech.* **10**: 488-497.
10. Bowman, L. and E. Geiger. 1984. *Biotechnol. Bioeng.* **26**: 1492-1497.
11. Zertuche, L. and R.R. Zall. 1985. *Biotechnol. Bioeng.* **27**: 547-554.
12. Tjerneld, F., I. Persson, P.A. Albertsson, B.H. Hägerdal. 1985. *Biotechnol. Bioeng.* **27**: 1036-1043.
13. Wan, Y.L., H. Hustedt, and M.R. Kula. 1988. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **10**: 173-182.
14. Kroner, K.H. and M.R. Kula. 1978. *Process Biochem.* **13**: 7-9.
15. Kim, J. H., B.K. Hur, and Y.I. Mok. 1991. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **6**: 175-180.
16. Hur, B.K., J.S. Yu, and J.W. Yang. 1989. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **4**: 48-56.
17. Hägerdal, B.H., M. Larsson, and B. Mattiasson. 1982. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **12**: 199-202.
18. Marwaha, S.S., J.F. Kennedy, and V.K. Sehgal. 1988. *Process Biochem.* **23**: 17-22.

(Received May 11, 1994)

참고문헌

1. Tangnu, S.K. 1982. *Process Biochem.* **17**: 36-49.