

동시당화 및 추출발효에 의한 Lactic Acid 생산

공 장 범 · 우 창 호 · 최 실 호 · †윤 현 희

경원대학교 화학공학과

(접수 : 1999. 1. 11., 게재승인 : 1999. 3. 13.)

Simultaneous Saccharification and Extractive Fermentation for Lactic Acid Production

Chang Bum Kong, Chang Ho Woo, Sil Ho Choi, and Hyon Hee Yoon†

Department of Chemical Engineering, Kyungwon University, Seongnam, Kyonggi 461-701, Korea

(Received : 1999. 1. 11., Accepted : 1999. 3. 13.)

Lactic acid production from cellulose by simultaneous saccharification and fermentation(SSF) was studied. The SSF using cellulase enzyme Cytolase CL and *Lactobacillus delbrueckii* was strongly inhibited by the end product(lactic acid). An ion-exchange resin(IRA-400) was used for in-situ product removal during SSF. The sorption capacity of the resin was 200mg/g-resin. The simple SSF and the extractive SSF resulted in lactic acid concentrations of 30.4g/L and 32.0g/L, respectively, at the initial substrate concentration of 50g/L. A model was developed to simulate the extractive SSF. The lactic acid conversion for the initial substrate of 100g/L was estimated to be improved from 60% to 90% by in-situ product removal. The experimentally determined kinetic parameters were pH dependent, and fitted as empirical expressions to establish their values at different pH's. Lactic acid productivity was predicted to be maximum at pH 4.5-5.0.

Key Words : Lactic acid, Cellulose, Saccharification, fermentation, Ion-exchange resin

서 론

Lactic acid(2-hydroxypropanoic acid)는 식품, 의약품, 및 각종 유기화합물의 주부원료로 광범위하게 사용되고 있으며 특히 최근에는 생분해성 및 생체활성 고분자 등의 원료로 그 수요의 증대가 예상되고 있다(1). Lactic acid의 제조는 미생물발효 혹은 화학적 합성방법을 사용하고 있으며 현재 전체 생산의 절반 이상이 미생물발효방법으로 제조되고 있다. 미생물발효방법은 매년 재생산되는 바이오매스를 원료로 사용한다는 점과 화학적 합성법과는 달리 공해문제가 적은 청정기술이라는 장점을 갖고 있다.

Glucose를 원료로한 lactic acid의 생산에 관한 연구는 오래 전부터 수행되어 다양한 연구 결과가 보고되었다(2-5). 단순한 플라스크실험에서 90%이상의 lactic acid 생산수율을 얻었고, 발효도중 생성물을 제거하는 공정을 사용하여 생산성이 향상되는 것을 보고하였다(6-8). 또한 lactose를 원료로한 발효에서도 높은 lactic acid 생산수율을 관찰하였다(9, 10). 현재까지 lactic acid 생산의 주원료는 lactose 혹은 전분(whey, corn, sweet

sorghum, sugarcane 등) 유래의 glucose이며 이것들은 식품으로 사용될 수 있기 때문에 가격이 비싸고 결과적으로 lactic acid의 생산원가를 높이는 원인이 되고 있다. 따라서 최근에 lactic acid 생산의 대체원료로 섬유성바이오매스(cellulosic substance) 자원의 활용에 관한 연구가 수행되고 있다(11-15).

섬유성바이오매스 자원으로부터 생산될 수 있는 생물공학제품은 연료용 알코올, 식품, 및 각종 유기화학제품 등으로 다양하다. 섬유성 바이오매스자원은 농산 및 임산폐기물, 펄프 및 제지 공정 슬러지, 폐신문지, 각종 고체 쓰레기 등으로 이들의 재이용은 환경 및 경제적인 측면에서도 많은 관심이 모아지고 있다. 현재까지는 연료용 에탄올 생산(16, 17)에 관한 연구가 가장 활발하게 이루어지고 있으며 lactic acid 생산(14)에 관한 연구는 비교적 최근에 진행되고 있다. 그러나 lactic acid는 polylactic acid의 실용화에 따라 수요가 증대되고 또한 lactic acid 발효시 에탄올발효와 달리 CO₂로의 물질손실이 없다는 산업적으로 중요한 이점을 갖고 있다. 섬유성바이오매스로 부터 lactic acid를 생산하기 위해서는 에탄올 생산공정과 마찬가지로 첫째, cellulose를 효소 가수분해하여 glucose로 전환시키고 둘째, glucose를 발효시켜 lactic acid를 제조하는 두 단계가 필요하다. 섬유성바이오매스의 효소가수분해공정에서 생성물인 cellobiose와 glucose의 저해작용으로 인하여 반응속도가 매우 느리고, 따라서 많은 양의 효소가 소모된다. 효소사용량을 최소화하는 방법인 SSF(simultaneous saccharification and fermentation)는 효소당화와 발효를 동시에 수행하므로써 효소에 의해 생성된

† Corresponding Author Department of Chemical Engineering, Kyungwon University, Seongnam, Kyonggi 461-701, Korea

Tel : 0342-750-5356, Fax : 0342-750-5363,

e-mail : hhyoon@mail.kyungwon.ac.kr

glucose가 미생물에 의하여 즉시 소모되도록 하는 것으로, cellulase 효소에 대한 glucose의 저해를 최소화하여 효소당화속도가 증대되고 따라서 고가의 효소사용량을 줄일 수 있게 된다 (16). SSF공정은 에탄올 생산공정에서 주로 사용되고 있으나 lactic acid 생산에 더욱 효과적으로 사용될 수 있다. 그 이유는 cellulase 효소와 lactic acid 균주의 활성조건이 유사하기 때문이다. SSF를 lactic acid 생산에 응용한 실험결과는 Abe 등(11)에 의하여 처음으로 보고되었으며, Venkatesh 등(12) SSF공정의 모델과 최적 조업조건을 조사하였다.

미생물발효에 의한 lactic acid생산의 문제점은 발효생성물인 lactic acid의 저해작용과 고비용의 lactic acid 정제과정이다. Lactic acid의 미생물에 대한 저해작용을 감소시키기 위하여 발효공정에 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 또는 CaCO_3 등을 주입하여 calcium carboxylate를 형성시킴으로써 free lactic acid를 제거하고 있다. 이 경우 calcium carboxylate로부터 free lactic acid를 회수하기 위하여 황산용액등으로 처리해야하며 결과적으로 calcium sulfate가 발생하여 폐기물처리의 문제를 발생시킨다.

본 연구에서는 SSF 공정에서 lactic acid의 inhibition 영향을 평가하고, lactic acid 분리를 위한 적절한 이온교환수지를 선정하기 위하여 각종 이온교환수지의 lactic acid 흡착능을 조사하였으며, SSF에 이온교환수지를 이용한 lactic acid 제거공정을 결합하여 그 성능을 조사하였다. SSF공정의 최적화를 위하여 SSF반응의 속도식에 관한 모델링과 모사실험을 수행하였다.

재료 및 방법

효소 및 균주

Cellulose 가수분해효소는 Cytolase CL(Environmental Bio Technologies, Inc.)을 사용하였다. 이 효소의 cellulase 활성도는 96 IFPU/mL 이었고, β -glucosidase와 endo-glucanase activity는 각각 80 p-NPGU/mL와 613 CMCU/mL 이었다. 균주는 *L. delbrueckii*(KCCM No. 35470)를 한국미생물보존센터로부터 분양 받아 사용하였다. 종균배양은 MRS 배지를 사용하여 37°C, pH 6.4 에서 24시간 동안 배양하였다.

동시당화발효 실험

발효배지의 조성은 yeast extract 60g/L, sodium acetate 1.67g/L, $(\text{NaPO}_3)_n$ 1.67g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L이었으며, 기질은 α -cellulose를 사용하였다. 효소주입량은 25 IFPU/g cellulose, 종균배양액은 10%를 각각 사용하였다. SSF실험은 200mL 유리병에 100mL의 배양액으로 45°C, pH 5.0의 조건에서 수행하였다. 발효도중 lactic acid 생산에 의한 산성화를 방지하기 위하여 CaCO_3 를 첨가하였다. Lactic acid 추출을 결합한 SSF 실험에서는 CaCO_3 대신 이온교환수지(IRA-400)를 첨가하여 SSF를 수행하였다.

흡착실험

본 실험에 사용한 이온교환수지는 일반적으로 유기산정제에 흔히 사용되고 있는 Amberlite IRA-400(gel type strong basic anion exchanger with quarternary ammonium functionality), IRA-910(macroporous strong basic anion exchanger with quarternary ammonium functionality), MWA-1(macroporous

weak basic anion exchanger with dimethyl amine functionality) 등이다. 각각의 수지는 다음과 같은 전처리를 한 후에 흡착실험에 사용하였다. Amberlite IRA-400은 먼저 증류수로 세척한 후 2.5N NaOH 용액으로 세척하여 chloride ion을 제거하고 다시 alkali를 제거하기 위하여 증류수로 세척하였다 (8). Amberlite IRA-910과 MWA-1은 먼저 5% HCl로 세척한 후 다시 4% NaOH로 세척하여 chloride ion을 hydroxyl ion으로 치환하였다. 최종적으로 세척수의 pH가 8이하가 될 때까지 증류수로 세척하였다. 전처리된 수지는 desiccator 안에서 48시간 동안 건조시켜 사용하였다. 흡착실험은 SSF의 조업조건과 동일한 45°C, pH 5.0에서 lactic acid의 초기농도가 10, 20, 30, 40, 50 g/L인 용액에 수지 100g/L를 첨가하여 48시간 동안 흡착시켜 흡착된 lactic acid의 양을 측정하였다. Lactic acid의 pK는 3.86이며 따라서 pH 5일 때 lactic acid 용액중 lactate fraction은 93.2%가 된다.

분석

유기산 및 당성분은 HPLC로 분석하였다. 사용한 column은 HPX-87H(BioRad)이고 이동상은 0.005M H_2SO_4 이었다.

SSF 속도식

SSF공정의 modeling을 위하여 다음과 같은 속도식을 사용하였다. 아래 식에서 R은 각 성분의 생성속도를 나타낸다. 식 (1)과 (2)는 cellulase 효소에 의하여 섬유소가 cellobiose로 분해되고, cellobiose가 β -glucosidase에 의하여 glucose로 전환되는 것이다. 식(3), (4), (5)는 cell production, substrate(glucose) uptake, lactic acid production을 나타낸다.

$$R_C = -\frac{k'_1 C}{1 + (B/K_{1B}) + (G/K_{1G})} \quad (1)$$

$$R_B = -1.056R_C - \frac{k'_2 B}{K_m(1 + (G/K_{2G})) + N} \quad (2)$$

$$R_X = \frac{\mu_m G X}{K_S + G} (1 - L^- / L_m^-) \exp[-(LH/LH_m)] \quad (3)$$

$$R_G = 1.053(-1.056R_C - R_B) - R_X / Y_X - R_L / Y_L \quad (4)$$

$$R_L = \alpha R_X + \beta X \quad (5)$$

이식에서, C, B, X, G, L, L^- , LH 각각 cellulose, cellobiose, cell, glucose, total lactic acid, lactate, undissociated lactic acid의 농도를 나타낸다. Lactic acid 해리반응의 평형상태에서 undissociated lactic acid의 농도는 다음과 같이 계산된다.

$$LH = \frac{L}{1 + 10^{(pH-pK)}} \quad (6)$$

섬유소의 효소가수분해속도식(식 (1)과 (2))은 Phillippidis 등

(18)이 cellobiose와 glucose의 저해작용을 고려하여 제안한 것이다. 상수 1.056과 1.053은 가수분해시 첨가되는 물분자를 고려한 것이다. Lactic acid 발효균주(*L. delbruckii*)의 성장속도식(식 (3))은 Monod 식에 lactic acid의 저해작용을 포함시킨 것이다(19) Lactic acid 생성속도(식 (5))는 Luedeking과 Piret의 식을 사용하였다 식 (5)에서 α 와 β 는 각각 성장관련상수와 비성장관련상수를 나타낸다. 식 (4)는 glucose가 가수분해에 의하여 생성되고 발효에 의하여 lactic acid와 cell mass로 전환되는 것을 나타낸 것이다.

결과 및 고찰

Lactic acid inhibition

Cellulose로부터 lactic acid를 생산하기 위한 SSF공정에서 생성물인 lactic acid가 미치는 영향을 조사하였다. Figure 1은 lactic acid를 각각 0, 10, 20, 30 g/L 첨가하고 SSF를 수행하여 반응시간에 따른 SSF 용액내의 lactic acid 농도변화를 나타낸 것이다. 각 SSF 용액의 초기 pH는 5.0으로 조절하였다. Figure 1에 나타난 바와 같이 lactic acid를 첨가하지 않은 경우에 반응시간에 따라 지속적인 lactic acid의 생산을 나타내고 있다. 반면에, lactic acid가 첨가된 경우에는 lactic acid의 농도변화가 거의 없는 것을 관찰할 수 있다. 본 실험은 플라스크 실험으로 발효도중 pH를 조절하지 않았기 때문에 pH의 영향과 동시에 lactic acid의 영향에 의하여 전체적으로 lactic acid의 생성이 낮게 나타났다. 일반적으로 유기산의 저해작용은 유기산의 용액 내에서의 형태(undissociated 혹은 dissociated form)에 따라 다르게 된다. 본 실험에서는 lactic acid의 농도를 HPLC로 측정하였는데, 이때 측정된 lactic acid의 양은 free lactic acid와 lactate가 합쳐진 것이다. 따라서 본 실험의 결과로부터 lactic acid의 형태에 따른 저해작용을 구별할 수는 없다. 그러나 전체적으로 lactic acid의 저해작용은 심각한 것으로 나타났으며, 따라서 SSF를 효과적으로 조업하기 위해서는 SSF도중 생성된 lactic acid를 제거시키는 공정이 필요한 것으로 판단된다.

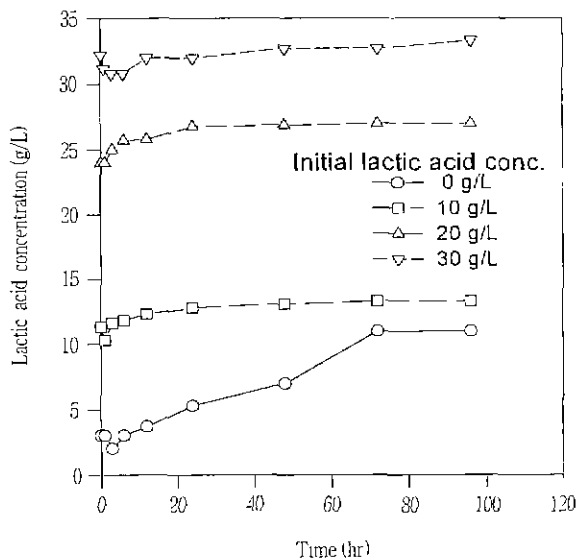


Figure 1. Lactic acid inhibition on SSF of α -cellulose(50g/L) at initial pH 5.0 and 45°C.

Lactic acid adsorption

SSF공정에서 생성된 lactic acid의 분리에 적절한 이온교환수지를 선정하기 위하여, 유기산 흡착에 흔히 사용되고 있는 IRA-400, IRA-910, MWA-1 등의 이온교환의 흡착특성을 조사하였다. Figure 2는 각 이온교환 수지의 흡착성능을 나타낸 것이다. 흡착실험은 SSF의 조업조건인 pH 5.0과 45°C에서 lactic acid의 초기농도가 10, 20, 30, 40, 50 g/L인 용액에 수지 100g/L를 첨가하여 48시간 동안 흡착시킨 것이다. Figure 2에서 나타난 바와같이 본 실험에서 사용한 lactic acid의 초기농도 범위에서 IRA-400 수지가 lactic acid 흡착능이 약 200mg/g dry resin 으로 가장 우수하였다. 이온교환수지를 SSF공정에 사용하기 위해서는 멸균공정이 필요하다. IRA-400 수지는 멸균 온도인 121°C에서도 수지의 변성을 가져오지 않는 장점을 갖고 있다(8). 따라서 IRA-400 수지를 선정하여 SSF공정에 사용하게 되었다.

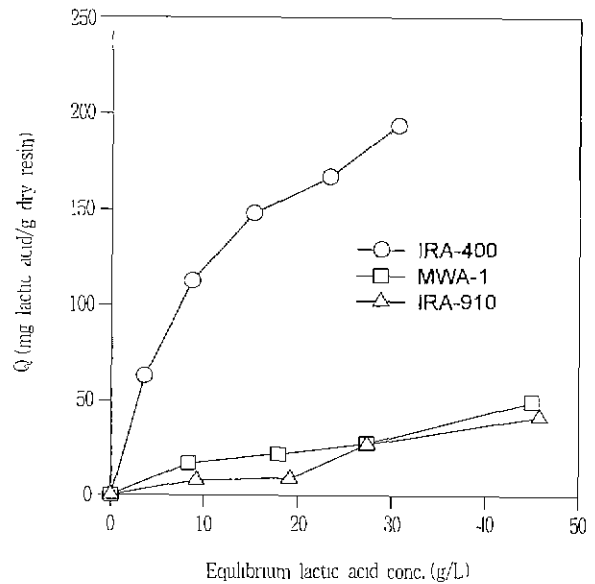


Figure 2. Lactic acid adsorption by various ion-exchange resins at initial pH 5.0 and 45°C.

이온교환수지를 이용한 동시당화추출발효

SSF도중 생성된 lactic acid를 분리제거하기 위하여 SSF용액에 이온교환수지(IRA-400, OH-form)를 첨가하고 SSF실험을 수행하였다. Figure 3은 SSF도중 pH조절을 하지 않은 단순 희분식 SSF, CaCO₃를 첨가한 SSF, 이온교환수지를 첨가한 SSF에서 반응시간에 따라 생성된 lactic acid의 농도를 나타낸 것이다. Figure 3에 나타난 바와 같이 단순 SSF인 경우 lactic acid 농도가 반응시간 72시간에서 11.0g/L인 반면에, CaCO₃를 첨가한 SSF 한 경우에 30.4g/L(전환율 60.8%)까지 도달하였다 이것은 발효도중 생성된 lactic acid가 CaCO₃에 의하여 중화되어 발효액의 pH가 조절되었기 때문이다. 그러나, CaCO₃은 lactic acid와 결합하여 발효에 의해 생성된 lactic acid의 회수시 정제가 어려운 문제점이 있다. SSF용액에 이온교환수지를 첨가한 경우, Figure 3에 나타난 바와 같이, lactic acid의 농도가 32.0g/L(전환율 64.0%)로 CaCO₃를 첨가한 경우에 비하여 생산성이 향상되었다. 이온교환수지를 첨가함으로써 lactic acid

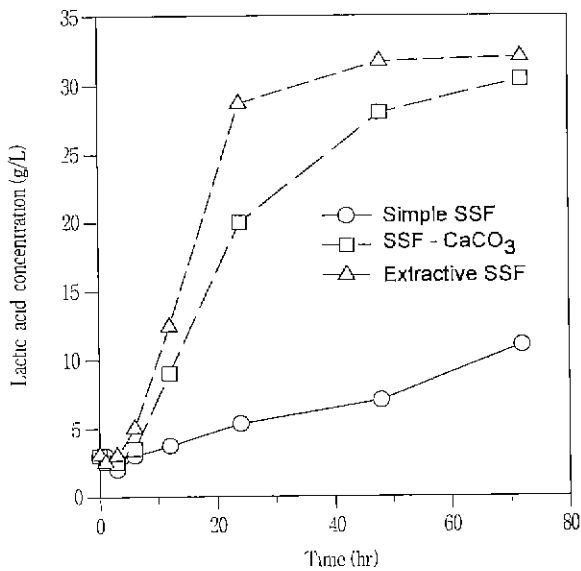


Figure 3. Concentration profiles during SSF and extractive SSF of α -cellulose(50g/L) at initial pH 5.0 and 45°C.

가 제거되고 이로 인하여 생성물저해가 감소되고 또한 용액의 pH가 조절되었기 때문이다. 이와 같은 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다. 즉, SSF를 이용한 lactic acid 생산공정에서 이온교환수지를 사용하여 추출발효를 결합함으로써 lactic acid의 생산성을 향상 증가시킬 수 있으며, 또한 발효액의 pH 조절과 생성물의 회수가 용이하게 된다.

SSF공정 모델링 및 모사실험

SSF공정의 각 단계별 반응식(1-5)을 수치해석방법으로 적분하였다. 모델식의 매개변수중 효소가수분해반응 속도상수(k_1 , k_2)와 발효반응 속도상수(μ_0)는 실험치를 모델식과 비교하여 비선형 회귀분석법으로 결정하였다. 기타 필요한 매개변수들은 Table 1에 표시한 바와 같이 문헌을 통하여 조사된 값을 사용하였다. Table 1의 문헌자료는 본 실험에서 사용된 cellulase 효소와 lactic acid 발효균주와 동일한 *T. reesei* 유래의 cellulase 효소와 *L. debruckii*를 각각 사용하여 얻어진 자료이다. Figure 4는 효소가수분해반응 속도상수를 구하기 위하여 cellulose를 기질로한 효소가수분해반응실험을 수행한 결과로서, 반응시간에 따른 glucose 생성량의 실험치와 모델식과 비교한 것이다 Figure 5는 발효반응 속도상수를 구하기 위하여 glucose를 기질로한 lactic acid 발효실험을 수행한 결과이며, 반응시간에 따른 glucose와 lactic acid의 농도를 실험치와 모델식과 비교한 것이다. 이와 같이 SSF의 각 단계를 독립적으로 수행하여 얻어진 속도상수들을 SSF 모델식의 매개변수로 사용하였다. Figure 6은 SSF반응의 실험결과와 계산치를 비교한 것으로 모델식이 실험결과를 적절히 묘사하는 것으로 나타났다.

SSF공정의 최적화를 위하여 각 반응식에서 pH에 대한 영향을 고려하였다. 효소당화실험을 통하여 속도상수 k_1' 과 k_2' 가 pH에 따라 변하는 것을 관찰하였으며(Figure 7), 실험치의 curve fitting에 의하여 각 속도상수의 pH 의존성을 다음과 같은 실험식으로 표현하였다.

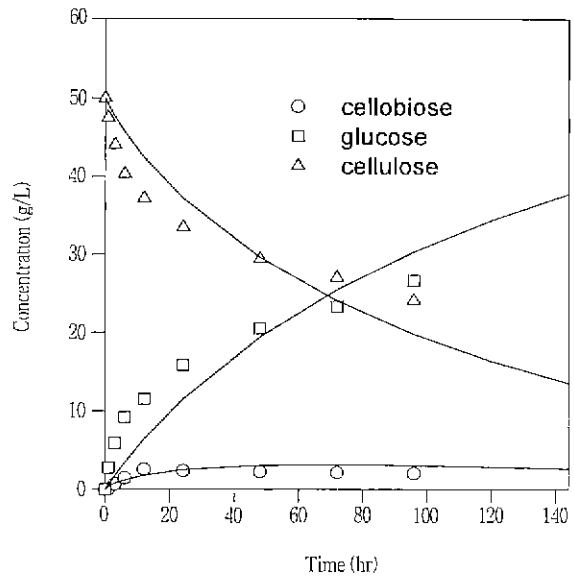


Figure 4. Comparison of model prediction(lines) and experimental data(symbols) for enzymatic hydrolysis at pH 5.0 and 45°C.

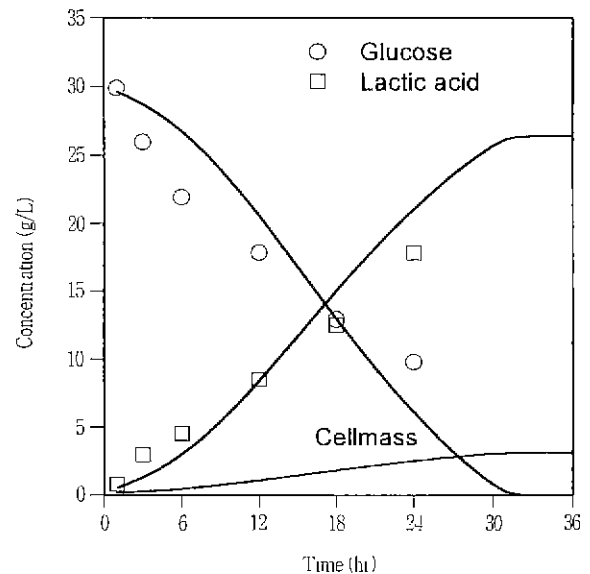


Figure 5. Comparison of model prediction (lines) and experimental data (symbols) for fermentation of glucose 30g/L.

$$k_1' = 0.0184 \times \exp[-0.2366(\text{pH}-4.44)^2] \quad (7)$$

$$k_2' = 38.65 \times \exp[-0.7883(\text{pH}-4.50)^2] \quad (8)$$

Lactic acid 발효반응에서는 균주 성장속도식의 속도상수가 pH에 대한 의존성을 다음과 같이 나타내었다(20).

$$\mu_m = \frac{\mu_0}{(1 + H^+ / K_{\mu 1} + K_{\mu 2} / H^+)} \quad (9)$$

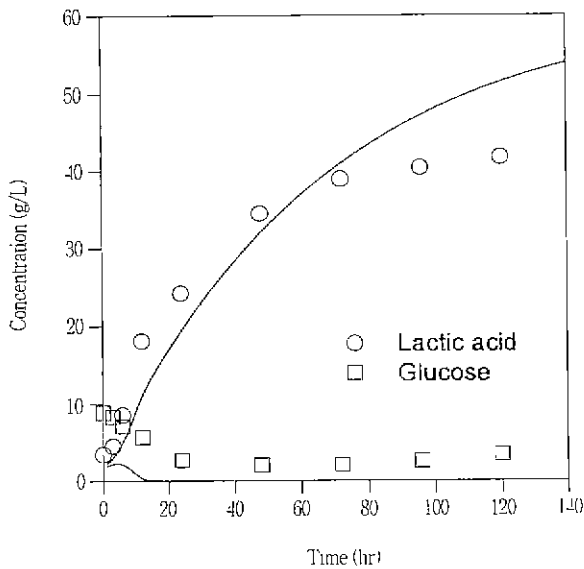


Figure 6. Comparison of model prediction(lines) and experimental data(symbols) for SSF of α -cellulose(50g/L) at pH 5.0 and 45°C.

pH 변화에 따른 SSF공정의 성능을 각 모델식과 속도상수를 계산하는 식 (7-9)를 이용하여 계산하였다. Figure 8에 나타난 바와 같이 pH에 따라 lactic acid의 생산량이 크게 변화하였으며, pH 4.5~5.0 에서 최대의 생산량을 나타내었다

Figure 9는 SSF반응과 단순효소당화반응에서 glucose의 생성속도를 비교한 것으로 SSF반응에서 생성된 glucose의 농도가 단순당화에 비하여 최고 약 30%까지 증가함을 보여주고 있다. pH가 4.5이하에서는 SSF의 효과가 감소되는데 이것은 lactic acid 발효속도가 율속단계가 되기 때문이다. pH 4.5이상에서는 SSF에 의하여 당화속도가 증가됨을 보여주고 있다 이것은 효소당화속도가 율속단계로서 효소당화에 의하여 생성된 glucose가 즉시 발효기질로 사용됨으로서 효소에 대한 glucose의 저해가 최소화되기 때문이다.

SSF도중 생성된 lactic acid의 분리제거가 생산성 향상에 미치는 영향을 조사하였다. Figure 10은 SSF 반응기에 첨가된 이온교환수지의 양을 변화시켰을 때 반응시간에 따른 lactic acid의 생산량을 계산한 것이다. SSF 반응기내의 이온교환수지에 의한 lactic acid의 흡착량은 발효용액의 lactic acid 농도와 평형을

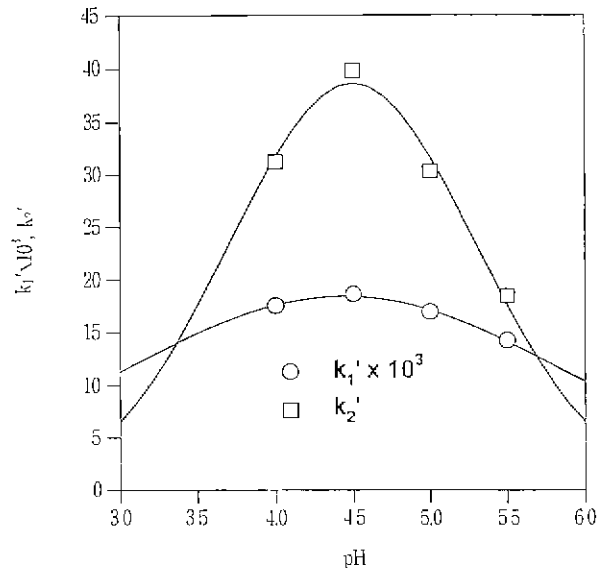


Figure 7. Specific rates of cellulose(k_1') and cellobiose(k_2') hydrolysis at different pH values. Solid lines : Curve fits (Equations 7 and 8)

이루고 있다고 가정하고, Freundlich 흡착식을 사용하여 계산하였다. Freundlich 흡착식의 상수는 Figure 2의 실험결과로부터 구하였다.

$$q = kL^n = 0.03858L^{0.4741} \tag{10}$$

이온교환수지에 흡착된 양을 lactic acid의 물질수지식(식 (5))에 대입하여 다음과 같은 식으로 lactic acid의 농도변화를 계산하였다.

$$R_L = \alpha R_X + \beta X - w(dq/dt) \tag{5'}$$

위식에서, q와 w는 각각 이온교환수지의 흡착량(g lactic acid/g resin)과 발효용액 부피당 이온교환수지 첨가량(g/L)을 나타낸다. 식 (5')에서 이온교환수지에 의한 lactic acid 제거속도를 나타낸 항은 다음과 같이 변형할 수 있다.

$$dq/dt = (dq/dL)(dL/dt) = nkL^{n-1}R_L \tag{11}$$

Table 1. Kinetic parameter values used in the simulation

| Parameters | Value | Source | Parameters | Value | Source |
|------------|------------------------------|--------------------------------|------------|---------------------------|----------------------------|
| k_1' | 0.017 h ⁻¹ (pH 5) | This work, Eq.(7) | μ_o | 0.778 h ⁻¹ | This work, Eq.(9) |
| k_2' | 303 h ⁻¹ (pH 5) | This work, Eq.(8) | K_{m1} | 7.87 × 10 ⁻⁶ M | Akerber <i>et al.</i> [21] |
| K_{1B} | 585 g/L | Philippidis <i>et al.</i> [18] | K_{m2} | 9.42 × 10 ⁻⁷ M | Akerber <i>et al.</i> [21] |
| K_{1G} | 53.16 g/L | Philippidis <i>et al.</i> [18] | K_S | 0.304 g/L | Wang <i>et al.</i> [19] |
| K_m | 10.56 g/L | Philippidis <i>et al.</i> [18] | L_m^- | 73.8 g/L | Wang <i>et al.</i> [19] |
| K_{2G} | 0.62 g/L | Philippidis <i>et al.</i> [18] | LH_m | 1.08 g/L | Wang <i>et al.</i> [19] |
| Y_X | 0.79 g/g | Akerber <i>et al.</i> [21] | α | 8.77 g/g | Wang <i>et al.</i> [19] |
| Y_L | 1.0 g/g | Akerber <i>et al.</i> [21] | β | 0.33 g/(gh) | Wang <i>et al.</i> [19] |

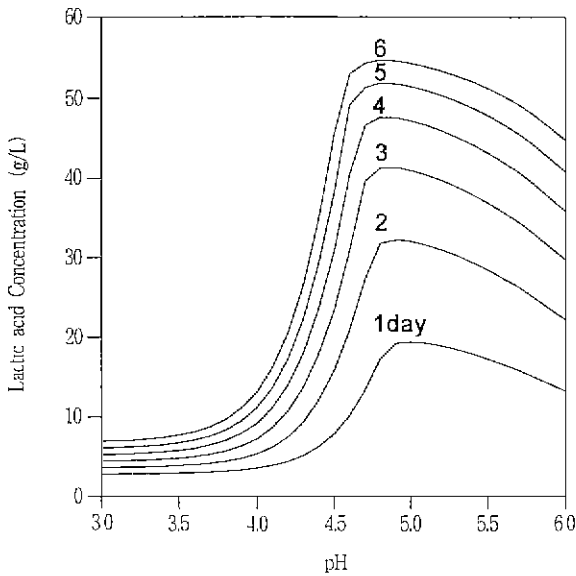


Figure 8. Lactic acid concentration on different days for SSF versus pH for an initial cellulose concentration of 50g/L.

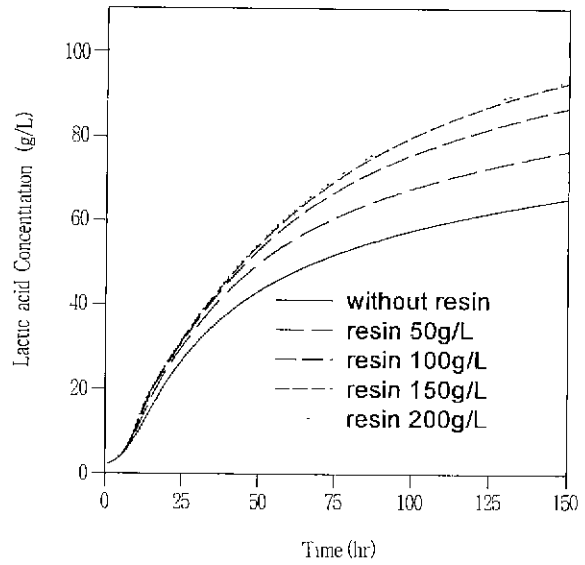


Figure 10. Effect of Lactic acid removal during SSF. (SSF conditions : cellulose loading 100g/L, pH 5.0, 45°C)

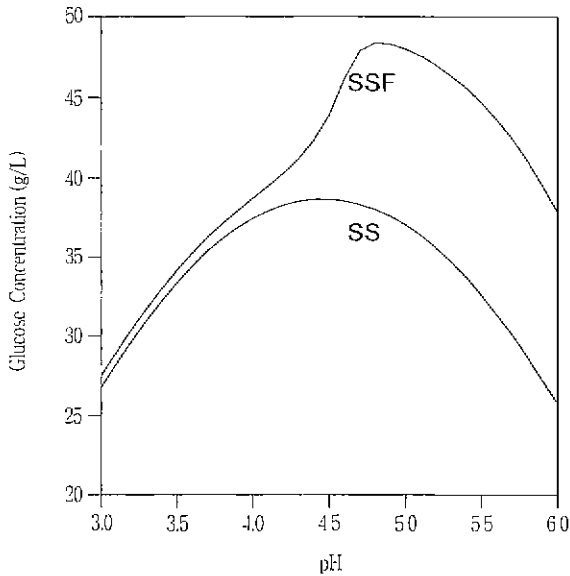


Figure 9. Comparison of glucose concentrations for SS and SSF at various pH's for an initial cellulose of 50g/L at the end of fifth day.

이식을 식 (5)'에 대입하면 SSEF에서 lactic acid의 물질수지식은 다음과 같이 표현된다.

$$R_L = \frac{\alpha R_x + \beta X}{1 + nkL^{n-1}w} \quad (5)''$$

식 (5)''를 식 (1-4)와 함께 수치적분하여 이온교환수지를 이용한 동시당화추출발효에서 lactic acid의 농도변화를 구한 결과를 Figure 10과 11에 표시하였다. Figure 10은 초기 기질사용량이 100g/L인 경우에 수지첨가량에 따른 lactic acid 생성량을 나타낸 것으로 수지첨가에 의한 lactic acid 제거시 lactic acid 생산

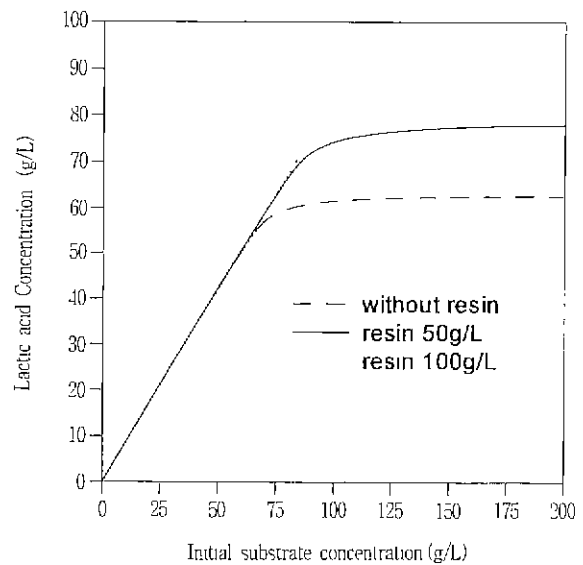


Figure 11. Lactic acid concentration on the fifth day of SSF versus different initial substrate concentrations. (SSF conditions : pH 5.0, 45°C)

수율이 약 60%에서 90%이상까지 증가되는 것을 보여주고 있다. Lactic acid 제거의 효과는 초기 기질(cellulose)의 농도에 따라 다르게 나타난다. Figure 11에서 볼 수 있듯이, 기질의 농도가 약 75g/L 이하에서는 수지첨가의 효과가 없으며 기질의 농도가 높을수록 수지첨가의 효과 크게 나타난다. 이상과 같은 모델링 및 모사실험결과는 생성물분리를 결합한 SSF 공정의 설계와 최적화에 사용될 수 있을 것이다.

요 약

섬유성바이오매스로부터 lactic acid를 생산하기 위한 동시당

화 및 추출비효공정의 성능과 조업특성을 조사하였다. 섬유소 가수분해효소 Cytolase CL과 lactic acid 발효균주 *L. delbrueckii* 를 사용한 동시당화발효(SSF)에서 생성물인 lactic acid의 저해 작용이 심각하였다. SSF 도중 lactic acid의 제거를 위하여 선정 한 IRA-400 수지의 lactic acid 흡착성능은 200mg/g dry resin 이었다. Lactic acid 제거의 효과는 초기 기질(cellulose)의 농도에 따라 다르게 나타난다. 기질의 농도가 50g/L인 경우 단순 SSF의 반응시간 72시간에서 lactic acid의 농도가 30.4g/L이었고, 이온교환수지를 첨가한 SSF에서는 32.0g/L이었다. 반면에, 모사 실험 결과, 초기 기질사용량이 100g/L인 경우에는 수지첨가에 의한 lactic acid 제거시 lactic acid 생산수율이 약 60%에서 90%이상까지 증가된다. SSF의 각 반응식에서 pH의 의존성을 조사하여 실험적으로 표현하였다. pH에 따라 lactic acid의 생산량이 크게 변화하였으며, pH 4.5~5.0 에서 최대의 생산량을 나타내었다

감 사

본 연구는 교육부 생물화학공학분야 연구과제(97년도)로 수행 되었으며 이에 감사드립니다. 또한 경원대학교 신소재응용연구소의 일부 지원에 감사드립니다

사 용 기 호

B = Cellobiose concentration, g/L
 C = Cellulose concentration, g/L
 k_1' = Rate constant of cellulose hydrolysis, h^{-1}
 k_2' = Rate constant of cellobiose hydrolysis, h^{-1}
 K_{1B} = Inhibition constants of cellulase by cellobiose, g/L
 K_{1G} , K_{2G} = Inhibition constants of cellulase and β -glucosidase by glucose, respectively, g/L
 K_m = Michaelis constant of β -glucosidase for cellobiose, g/L
 K_S = Monod constant of glucose, g/L
 k , n = Constants in Eq. (10)
 L = Lactic acid concentration, g/L
 L^- = Lactate ion concentration, g/L
 L_m^- = Maximum lactate concentration for cell growth, g/L
 LH = Undissociated lactic acid concentration, g/L
 LH_m = Constant in Eq. (3), g/L
 q = Adsorption capacity, g/g
 R_i = Rate of formation of compound i, g/L/h
 w = Resin concentration, g/L
 Y_1 = Product yield, g/g
 Y_X = Cell mass yield, g/g
 α = Growth associated constant for product formation, g/g
 β = Non-growth associated constant for product formation, g/g/h
 μ_m = Maximum specific growth rate, h^{-1}
 μ_m , K_{d1} , K_{d2} = Constants in Eq (9), h^{-1} , g/L, g/L

참 고 문 헌

1. Lipinsky, E. S and R. G. Sinclair (1986), Is Lactic Acid a Commodity Chemical?, *Chem. Eng. Prog.*, 82, 26
2. Cordon, T. C., R. H. Treadway, M. D. Walsh, and M. Osborne (1950), Lactic Acid from Potatoes. *Ind. Eng. Chem.*, 42, 1833-1839.
3. Patel, A. A., M. M. Waghmare, and S. K. Gupta (1980), Lactic Acid Fermentation of Sovmilk-A Review, *Proc Biochem.*, 10/11, 9-13
4. Linko, Y. Y. and P. Javanainen (1996), Simultaneous Liquefaction, Saccharification, and Lactic Acid Fermentation on Barley Starch, *Enzyme Microb. Technol.*, 19, 118-123.
5. Mercier, P., L. Yerushalmi, D. Rouleau, and D. Dochain (1992), Kinetics of Lactic Acid Fermentation on Glucose and Corn by *Lactobacillus amylophilus*, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 55, 111-121.
6. Boyaval, P., C. Corre, and S. Terre (1987), Continuous Lactic Acid Fermentation with Concentrated Product Recovery by Ultrafiltration and Electrodialysis, *Biotechnol. Lett.* 9, 207-212.
7. Yabannon, V. M. and D. I. C. Wang (1991), Extractive Fermentation for Lactic Acid Production, *Biotech. Bioeng.*, 37, 1095-1100.
8. Srivastava, A., P. K. Roychoudhury, and V. Sahai (1992), Extractive Lactic Acid Fermentation Using Ion-Exchange Resin, *Biotech. Bioeng.*, 39, 607-613.
9. Mehaia, M. A. and M. Cheryan (1987), Production of Lactic Acid from Sweet Whey Permeate Concentrates, *Proc Biochem.* 12, 185-188.
10. Aeschmann, A. and U. V. Stocker (1990), Continuous Production of Lactic Acid from Whey Permeate by *L. helveticus*, *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 926-932.
11. Abe, S. and M. Takagi (1991), Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cellulose to Lactic Acid, *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 93-96
12. Venkatesh, K. V., P. C. Wankat, and M. R. Okos (1994), Kinetic Model for Lactic Acid Production from Cellulose by Simultaneous Fermentation and Saccharification, *AIChE Symp. Ser.* 300, 80-87.
13. McCaskey, T. A., S. D. Zhou, S. N. Bru and R. Strickland (1994), Bioconversion of Municipal Solid Waste to Lactic Acid by *Lactobacillus* Species, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 45/46, 555-568
14. Parajo, J. C., J. L. Alonso, and V. Santos (1996), Lactic Acid from Wood, *Proc Biochem.*, 31, 271-280
15. Schmidt, S. and N. Padukone (1997), Production of Lactic Acid from Wastepaper as a Cellulosic Feedstock, *J. Ind. Microb. Biotechnol.*, 18, 10-14.
16. Takagi, M., Abe, S., Suzuki, S., Emert, G. H., and Yata, N. (1977), in *Proc. Bioconversion Symposium*, IIT, Delhi, Ghose, T. K., ed, 551.
17. Duff, S. J. B. and W. D. Murry (1996), Bioconversion of Forest Products Industry Waste Cellulosics to Fuel

- Ethanol : A Review, *Biores. Technol.*, **55**, 1-33.
18. Philippidis, G. P., Smith, T. K., and Wyman, C. E. (1992), Study of the Enzymatic Hydrolysis of Cellulose for Production of Fuel Ethanol by the SSF Process, *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 846.
 - 19 Wang, H, Seki, M, and Furusaki, S. (1995), Characteristics of Immobilized *L. delbrueckii* in a Liquid-Solid Fluidized Bed Bioreactor for Lactic Acid Production, *J. Chem. Eng. Japan*, **28**, 198.
 20. Bailey, J. E. and Ollis. D. F. (1987), *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, New York, 130.
 21. Akerber, C., Hofvendahl, K., Zacchi, G., and Hahn-Hagerdal, B. (1998), Modelling the Influence of pH, Temperature, Glucose, and Lactic Acid Concentrations on the Kinetics of Lactic Acid Production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 in Whole-Wheat Flour, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**, 682.