

실험계획법을 이용한 숙신산염 탈염의 주요 공정변수 결정

신승한^{*,†} · 장유진^{*,**} · 이도훈^{*} · 김상용^{*}

*한국생산기술연구원 환경에너지본부, **성균관대학교 고분자공학과
(2007년 11월 26일 접수, 2008년 1월 16일 채택)

Determination of Main Factors Affecting the Electrodialysis of Succinate by Using Design of Experiment Method

Seunghan Shin^{*,†}, Eugene Chang^{*,**}, Do-Hoon Lee^{*}, and Sangyong Kim^{*}

^{*}Korea Institute of Industrial Technology, Chungnam 330-825, Korea

^{**}Sungkyunkwan University, Gyunggi 440-746, Korea

(Received November 26, 2007; accepted January 16, 2008)

숙신산은 식품, 의약, 화장품 등의 생산에서 중요한 화학물질로 부각되고 있으며, 향후 많은 분야에 사용될 가능성이 큰 원료물질이다. 일반적인 화학합성법과는 달리, 바이오매스와 환경 친화적 생물공정에 의해 생산되는 숙신산은 주로 염의 형태로 존재하므로 무기이온 제거를 위한 후속공정으로 전기투석공정이 반드시 필요하다. 전기투석 공정의 최적화를 위해 전압, 농도, pH 등의 인자 중에서 반응변수(response)인 탈염도 및 에너지 소비량에 영향을 주는 인자 선정 및 그 중요도 분석을 실험계획법을 이용하여 수행하였다. 2 수준 3인자 완전 요인 설계표에 의거하여 실험을 수행하였고, 실험결과와 미니탭 분석을 통해 전압이 가장 중요도가 큰 인자임을 알았다. 또한, 반응변수 최적화 도구를 이용하여 반응변수의 목표값을 만족시키는 인자의 최적 조합을 찾고자 하였다. 한편, 전하를 띄지 않는 발효잔류물이 탈염에 미치는 영향을 조사하기 위해 농축 발효 옥수수 침출물, 이스트 추출액, 텍스트로즈 등의 함량에 따른 숙신산염의 탈염도 변화를 고찰하였다.

The separation and purification of succinate are necessary for the succinic acid production by a fermentation process. Among the purification processes, desalination of succinate is inevitable. In this work, electrodialysis was selected as a desalination method and its operating parameters affecting the degree of desalination and energy consumption were examined. Commercialized electrodialysis apparatus was used in this work and its optimum operating parameters were determined by using design of experiment (DOE) method. Voltage, concentration of succinate, and pH were selected as main parameters. Among them, voltage seemed to be the most important one. The final conversion of succinate to succinic acid was calculated when the operating parameters were optimized. Finally, the effect of impurities, such as corn steep oil, yeast extract, and dextrose on the electrodialysis efficiency was also studied.

Keywords: succinate, fermentation, desalination, electrodialysis, design of experiment

1. 서 론

지구온난화, 자연이상 현상, 화석자원 고갈 등의 환경 및 자원문제는 산업의 지속가능발전을 위해 선결되어야 하며, 이의 해결을 위한 유력한 방법으로 경제성이 확보된 산업 BT 기술의 적용이 활발히 추진되고 있다. 산업 BT 기술은 각종 대체원료, 고분자물질, 바이오 에너지 등을 재생가능한 자원인 바이오매스와 환경 친화적인 생물공정을 이용하여 생산하는 것으로 특히, 산업 BT에 의한 범용 기초 원료물질의 연구개발과 상업화는 정밀화학 산업에 있어서 매우 중요하다고 할 수 있다[1-3].

대표적인 범용 기초 원료인 숙신산(succinic acid)은 식품, 의약품 및 화장품 산업에 있어서 매우 중요한 물질이며, 최근 생분해성 플라

스틱으로 높은 관심을 끌고 있는 지방족 폴리에스터인 폴리부틸렌 숙시네이트(polybutylene succinate)의 합성 원료로도 사용되는 등, 향후 정밀화학 산업에서 차지하는 비중이 점차 증가하는 물질이다. 현재까지의 숙신산은 주로 고순도의 원료물질 사용과 엄격한 공정제어에 바탕을 둔 화학적 합성방법에 의해 생산되고 있으나, 최근에는 산업 BT에 의한 범용 기초 원료물질 생산 분위기에 힘입어 생물공정에 기초한 환경친화적 대안공정이 활발히 연구되고 있다[4-8].

고농도 숙신산 발효공정을 통해 얻어지는 발효 추출액에는 순수한 유기물질 이외에 다량의 무기 이온들이 존재하므로 순수한 유기물을 얻기 위해서는 무기이온 정제를 위한 후속공정이 필수적이다. 특히 발효에 의해 생산되는 숙신산은 염의 형태로 존재하므로 정제를 위한 탈염공정은 반드시 필요하다고 하겠다. 상업적으로 유용한 유기산의 탈염은 전기투석(electrodialysis) 현상을 이용한 전기투석 공정이 대표

† 교신저자(e-mail: shshin@kitech.re.kr)

적이다[9-14]. 전기투석 공정은 이온교환막과 전기투석조의 양단에 공급되는 직류전원에 의해 형성되는 전기장을 구동력으로 하여 이온성 물질을 분리하는 막분리 공정으로 이온교환막은 전해질 용액에서 막 내부의 고정이온의 작용에 의하여 대응이온의 선택투과성을 나타낸다. 따라서 양이온 교환막은 양이온을 선택적으로 투과시키며, 음이온 교환막은 음이온을 선택적으로 투과시켜 탈염이 진행된다. 그러나 전기투석법은 실리카, 부유물질, 많은 유기 화합물과 이온화하지 않는 물질들은 제거하지 못하고 탈염성능이 저하된다는 단점이 있다[16,17].

본 연구에서는 실험계획법(design of experiment)을 사용하여 고농도 숙신산 발효공정에서 필수 정제공정인 전기투석의 최적 작업조건을 찾고자 시도하였다. 실험계획법은 실험에 대한 계획방법을 의미하는 것으로, 실험을 어떻게 행하고, 데이터를 어떻게 취하며, 어떠한 통계적 방법으로 데이터를 분석하면 최소의 실험횟수에서 최대의 정보를 얻을 수 있는가를 계획하는 것이다. 실험계획법의 하나인 요인실험법은 가장 기본이 되고, 비교적 많이 사용되는 것들 중에 하나이다. 일반적으로 k^n 요인 실험법이란, 인자의 수가 n 이고 각 인자의 수준수가 k 인 실험계획법으로, 모든 인자간 수준의 조합에서 실험이 이뤄진다. 요인 실험법에 의한 실험을 요인 실험이라고 하고, 요인 실험에서는 모든 요인효과, 즉 인자의 효과와 상호작용을 추정할 수 있다는 특징이 있다. 본 연구에서는 이러한 요인 실험법을 이용하여 전압, 농도, pH 등 다양한 변수 중에서 숙신산의 정제 회수율과 에너지 소비량을 결정하는 주요 인자 및 그의 중요도 분석을 수행하고자 하였다. 또한, 인자의 효과와 상호작용의 추정을 통해 탈염도 및 에너지 소비량이 고려된 최적 공정조건을 찾고자 하였다. 실제 발효 생성물의 회수에 적용하기 위해, 고농도 숙신산 발효 시 필수적인 발효 첨가물인 농축 발효 옥수수 침출물(corn steep liquor), 이스트 추출액(yeast extract), 텍스트로즈(dextrose) 등이 잔존할 경우, 이러한 물질들이 전기투석 공정에 어떠한 영향을 미치는 지를 고찰하였다.

2. 실험

2.1. 전기투석 장치

본 연구에서 이노메디텍(주)에서 제작된 탈염 전기투석장치를 사용하였다. 문헌 및 자료 조사를 통해 여러 가지 이온 교환막에 대한 정보를 분석한 결과, 다른 교환막에 비해 숙신산에 대해 뛰어난 선택성과 내열성, 낮은 전기저항, 우수한 기계적 성질 등을 갖는 일본 도쿠야마(Tokuyama)사의 네오셉타(Neosepta) 분리막을 이온교환막으로 사용하여 제작되었다. 스택은 20개의 음이온 교환막(Neosepta AMX, Tokuyama Co, Japan)과 22개의 양이온 교환막(Neosepta CMX, Tokuyama Co, Japan)을 교대로 배열하여 구성하였으며, 교환막의 유효면적은 $50 \text{ cm}^2/\text{cell pair}$ 이었다. 제작된 전기투석 장치의 개략도를 Figure 1에 제시하였다.

2.2. 탈염 전기투석

전기투석의 원리에 근거하여 전압, 숙신산 초기농도, pH를 주요 실험인자로 선정하였고, 전압인가에 따른 전류의 변화와 용액의 전도도 변화를 측정하면서, 탈염 전기투석을 실시하였다. 실험계획법을 통해 각 실험인자들이 숙신산의 탈염도(degree of desalination) 및 에너지 소비량에 미치는 중요도를 결정하였다. 본 연구에서는 인자에 따른 반응 영역을 모두 확인할 순 없지만 상대적으로 작은 실험에 비해 많은 유용한 정보를 얻을 수 있는 2 수준 완전 요인 설계를 선택하였다.

각 인자가 탈염도 및 전력소모량에 미치는 중요도 분석실험은 숙신

산염 나트륨(Sodium succinate, Yakuri, 99%)으로 제조된 테스트 용액을 이용하여 수행하였다. 탈염 전기투석 실험은 상온에서 2 h 동안 실시하였으며, 실험이 완료되면 전기투석조의 충분한 세척을 수행한 후, 다음 실험을 진행하였다. 세척은 증류수를 이용하여 10 min 동안 3차례 실시한 후, 0.3% 수산화나트륨 용액과 0.1% 염산 용액을 이용하여 차례로 세척을 실시하였다.

공정변수 결정을 위한 실험인자의 수준 값은 기초 실험과 문헌조사를 통해 결정하였으며, 본 실험에서는 실험인자의 2 수준 값으로 전압(10 V, 20 V), 숙신산염 농도(50 g/L, 150 g/L), pH(4.5, 7.5)를 결정하였다. 실험에 의해 수집된 결과는 미니탭 소프트웨어(Minitab, ver.14)를 사용하여 분석하였다.

2.3. 잔류물 영향 실험

발효물의 탈염 전기투석을 위해서는 전처리가 필요하고, 전기투석을 위한 전처리로는 원심분리와 $0.45 \mu\text{m}$ 크기의 기공을 갖는 필터를 이용한 셀 물질 제거를 실시한다. 발효물이 전처리를 거치게 되면 대부분 생산물인 유기산염과, 발효 배지로 제공된 유기물인 발효 잔류물이 존재하게 된다. 본 실험에서는 탈염에 대한 발효 잔류물의 영향을 살펴보기 위해 숙신산염과 농축 발효 옥수수 침출물, 이스트 추출액, 텍스트로즈로 구성된 다양한 테스트 용액을 제조하였다. 테스트 용액은 50 g/L의 숙신산염 용액에 발효 옥수수 침출물, 이스트 추출액, 텍스트로즈를 각각 1 g, 10 g을 첨가하여 제조하였다. 발효 공정시 초기에 투입되는 각 성분의 양이 10 g 정도이므로 최대 첨가량을 10 g으로 제한하였다. 잔류물의 영향을 알아보기 위한 전기투석 실험은 20 V 전압에서 2 h 동안 수행하였다.

2.4. 기기 분석

숙신산염의 탈염효율을 나타내는 탈염도는 테스트 용액 내의 Na^+ 이온 농도를 유도결합플라즈마분광계(Shimadzu, ICPS-1000IV)로 측정함으로써 결정하였다. 테스트 용액의 경우 Na^+ 이온의 농도 감소는 숙신산 생성을 의미한다. 탈염도의 또 다른 척도인 용액의 전도도 변화는 전기투석이 진행되는 동안 전도도미터(Thermo, ORION 3STAR)를 이용하여 모니터링 하였다. 전기투석 실험 중의 에너지 소비량은 전압-전류 곡선을 이용하여 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 탈염도에 영향을 미치는 주요 인자

전기투석 공정변수 중 탈염도에 중요도가 높은 인자를 결정하기 위해, 본 실험에서는 2^3 요인 실험법에 의거하여 전기투석 실험을 수행하였다. Table 1에 미니탭의 DOE 메뉴에서 생성된 2수준 요인 실험 계획과 각 실험결과로 얻어진 탈염도 값을 제시하였다. 여기서 RunOrder는 실험계획 후 실험 실시에 따른 랜덤순서를 의미하고, 실험에 포함되지 않은 인자의 효과를 줄이기 위해 실험계획의 실행 순서가 랜덤화되었음을 의미한다. 중심점은 추가하지 않았고(CenterPt = 1) 여건상 실험을 시간적·공간적으로 분할하지 않았으므로 블록을 잡지 않았다(Block = 1).

요인 - 실험결과로부터 얻어진 정규 확률도와 파레토(Pareto) 차트를 Figure 2에 제시하였다. 정규 확률 플롯에서 중요한 효과들은 적합된 선으로부터 다소 떨어져 있게 되는데, 결과를 보면 전압 \gg 농도 $>$ pH 순으로 중요한 효과를 보임을 알 수 있다. 효과의 파레토 차트에서도 각 요인의 효과 크기를 쉽게 확인할 수 있다. 그림을 보면, 용

Table 1. 2³ Factorial Design for Determining the Key Factors Affecting the Degree of Desalination

RunOrder	CenterPt	Blocks	pH	Volt	Conc	Degree of desalination
1	1	1	4.5	10	50	0.792
2	1	1	7.5	10	50	0.726
3	1	1	4.5	20	50	0.999
4	1	1	7.5	20	50	0.992
5	1	1	4.5	10	150	0.620
6	1	1	7.5	10	150	0.580
7	1	1	4.5	20	150	0.904
8	1	1	7.5	20	150	0.846

Table 2. Energy Consumption Measured during the Experiments in Table 1

RunOrder	Deg. desalination	Amount desalination (g/L)	Energy (Wh)	Energy-consumption (Wh/g)
1	0.792	39.6	4.45	0.112
2	0.726	36.3	4.60	0.127
3	0.999	49.9	15.05	0.301
4	0.992	49.6	14.48	0.292
5	0.620	93.0	6.00	0.065
6	0.580	87.0	5.61	0.064
7	0.904	135.6	25.25	0.186
8	0.846	126.9	26.80	0.211

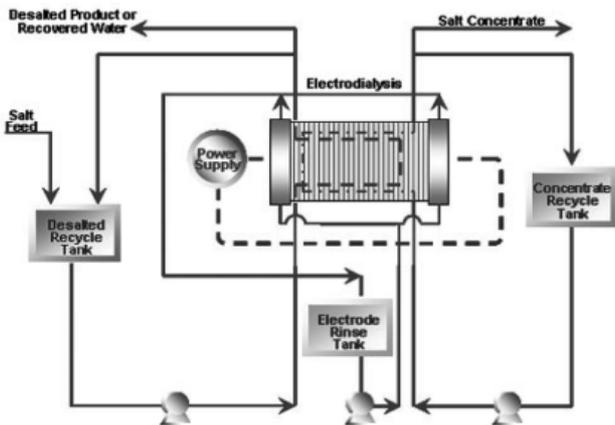


Figure 1. Schematic drawing of electrodiagnosis apparatus.

액의 pH는 유의한 수준의 영향을 준다고 보기 어려울 정도로 미미한 영향을 보였다. Figure 3에 제시된 주 효과도와 상호효과도를 보면, 전압의 경우 인자의 수준 변경에 의해 탈염도 평균이 많이 변화함을 알 수 있으며, 전압 증가는 탈염도 증가를 초래하였다. 한편, 주어진 반응시간(2 h) 범위에서는 초기 농도가 높을수록 탈염도는 다소 감소하는 것으로 보였는데, 이는 탈염이 정해진 시간에만 제한적으로 수행되었기 때문이다. 상호효과도는 2인자에 대한 상호작용을 나타내는 것으로 Figure 3을 보면, 전압, 농도, pH 각 인자들은 탈염도에 있어서 상호작용을 하고 있지 않음을 알 수 있다.

3.2. 에너지 소비량에 영향을 미치는 주요 인자

탈염도에 못지않게 중요하게 고려되어야 하는 것이 속신산 단위 그램당 탈염에 필요한 에너지이다. 전기투석에 의해 탈염되는 속신산의 그램당 소비 에너지를 계산하여 Table 2에 제시하였다. 에너지 소비량을 반응변수로 하여 미니탭 분석을 통해 얻어진 정규 확률도와 파레

토 차트는 Figure 4와 같다. 결과를 보면, 탈염도의 경우와 유사하게 전압, 농도가 중요한 효과를 보이거나 pH는 영향을 주지 않음을 알 수 있다. 한편, Figure 5의 주 효과도와 상호효과도를 보면 전압 증가는 에너지 소비량 증가를 초래하고, 초기 농도가 높을수록 탈염을 위한 그램당 소비 에너지는 감소하는 것으로 보인다. 탈염도의 경우와 유사하게 상호효과도 역시 전압, 농도 인자들이 상호작용을 하고 있지 않음을 알 수 있다.

반응변수의 목표 값을 만족시키는 인자의 최적 조합을 찾기 위해 반응 최적화 도구(Response Optimizer)를 수행하는데, 여기서는 탈염도와 그램당 에너지 소비량을 반응변수로 하여 반응 최적화 도구를 수행하였다. Figure 6에 수행결과를 제시하였다. 분석결과 최적 만족도를 나타낼 때의 전압은 13.1 V이고, 초기 농도가 50 g/L이며, 이때 탈염도는 85%, 그램당 에너지 소비량은 0.1747 Wh/g이 됨을 알 수 있다. 전술된 결과와 같이 탈염도 및 그램당 에너지 소비량은 전압에 의해 가장 크게 변동됨을 확인할 수 있었다.

3.3. 발효 잔류물의 영향

균주에 의해 생성된 발효 생성물의 주성분은 속신산염이며 부산물로는 초산염, 개미산염 등이 포함되어 있다[18]. 이밖에 발효 잔류물인 농축 발효 옥수수 침출물, 이스트 추출액, 텍스트로즈가 일부 검출될 것으로 예상된다. 주요 구성성분은 염 상태의 화합물로 전하를 띠고 있으므로 전기투석공정에 의해 쉽게 제거될 수 있다. 그러나 발효 잔류물은 대부분 전하를 띠고 있지 않은 유기 화합물들로 전기투석에 어떠한 식으로든 영향을 미칠 것으로 생각된다.

Table 3에 다양한 발효 잔류물 존재에 따른 용액 내 잔존 이온 농도를 제시하였다. 용액 내 Na⁺ 이온농도는 ICP로 측정하였는데, 첨가량의 종류 및 양에 따라 탈염공정 후 이온 잔존량이 변화함을 알 수 있다. 이스트 추출액이 첨가된 경우 이온 잔존량이 타 경우와 비교 시 유의미한 수준으로 달라, 전기투석 공정이 다소 효율적으로 일어났음을 알 수 있다. 이는 전기투석 공정조건은 동일하므로 잔류물 첨가에

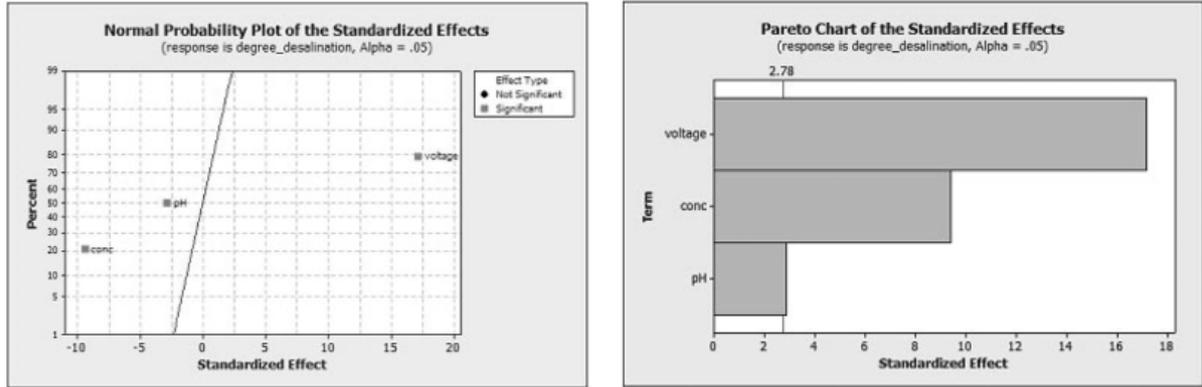


Figure 2. Normal probability plot and Pareto chart of the standardized effects.

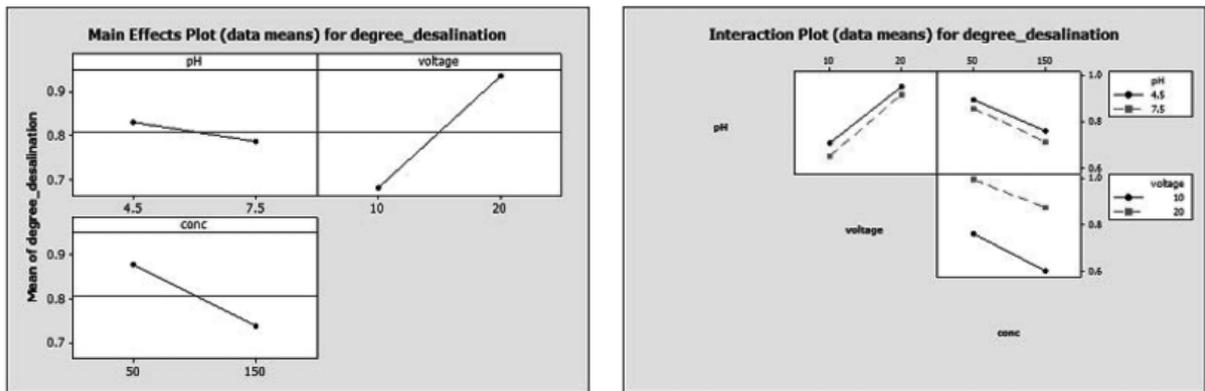


Figure 3. Main effects plot and interaction plot for degree of desalination.

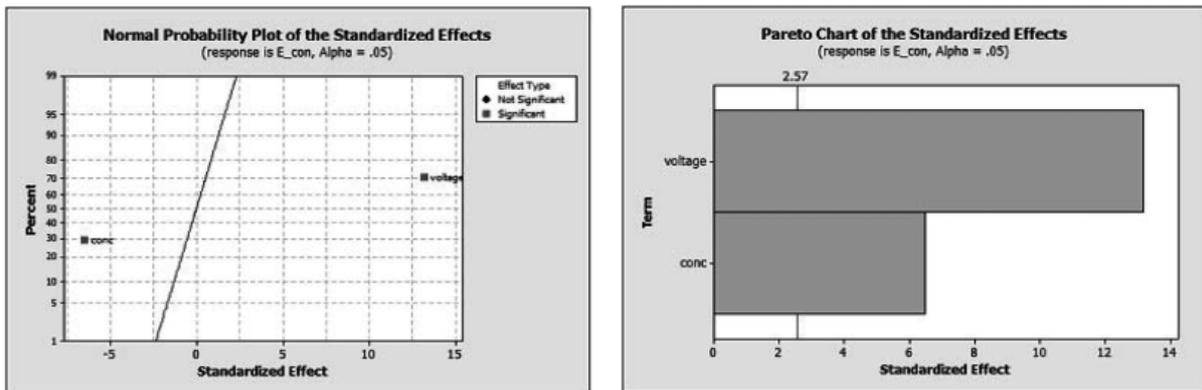


Figure 4. Normal probability plot and Pareto chart of the standardized effects.

따라 용액 특성이 변화하였기 때문인데, 특히 각 용액의 전도도 증가에 기인하는 것으로 생각된다. 각 용액의 전도도를 측정하여 Figure 7에 제시하였다. 그림을 보면 이스트 추출액 첨가에 의해 용액의 전도도가 26.6 Ω/cm에서 27.1 Ω/cm로 증가한 반면, 텍스트로즈 첨가에 의해서는 용액의 전도도가 25.5 Ω/cm로 다소 감소하는 것으로 보인다. 확실한 경향은 이스트 추출액과 텍스트로즈의 양을 좀 더 증가시켜 용액의 전도도 변화를 관찰함으로써 확인할 수 있었다. 용액 내 이온농도 측정결과 실제로 이스트 추출액이 10 g 첨가된 용액의 경우에는 Na⁺ 이온농도가 9840 mg/L로 미첨가 용액의 8330 mg/L에 비해

많은 Na⁺ 이온이 존재하였다. 이는 이스트 추출물이 생물유래 물질로 다양한 무기질이 존재하기 때문으로 이해된다. 실험결과를 종합해 보면, 본 실험에 적용된 탈염조건 20 V에서는 발효잔류물에 의한 탈염저해 현상은 발생하지 않았으며, 오히려 용액의 전도도 증가로 인해 탈염효율이 다소 증가되는 것으로 관찰되었다. 그러나 텍스트로즈의 함량 증가에 따른 용액의 전도도 감소에서 추정할 수 있듯이 텍스트로즈의 함량이 크게 증가하면 탈염효율의 저해가 초래될 것으로 예상된다.

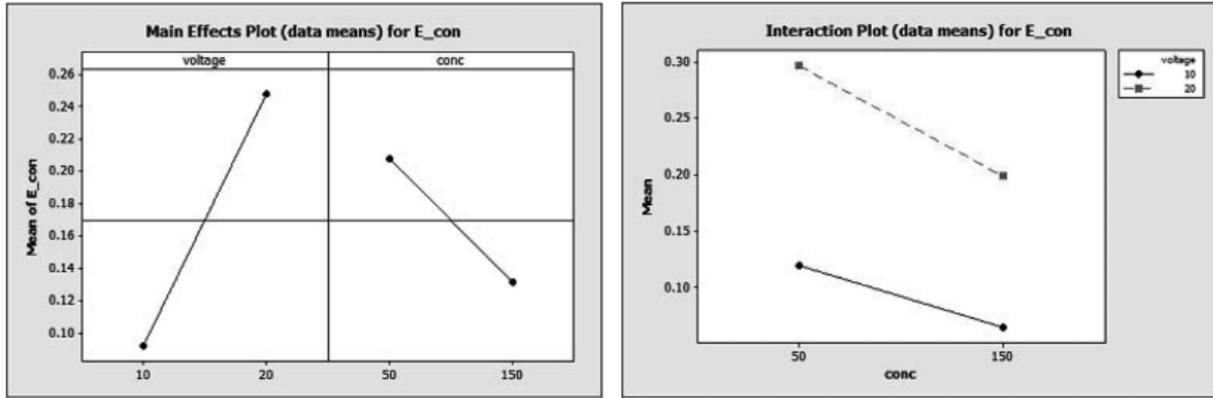


Figure 5. Main effects plot and interaction plot for energy consumption.

Table 3. Desalination of Sodium Succinate Solution^a with Different Organics

RunOrder	corn (g/L)	yeast (g/L)	dextrose (g/L)	Na ⁺ conc (μg/mL) ^b
1	1	1	1	61.556
2	10	1	1	53.583
3	1	10	1	36.089
4	1	1	10	68.151
5	10	10	10	28.731

^aSolution concentration is 50 g/L (Na⁺ concentration is 8330 μg/mL), ^bAfter desalination at 20 V for 2 h.

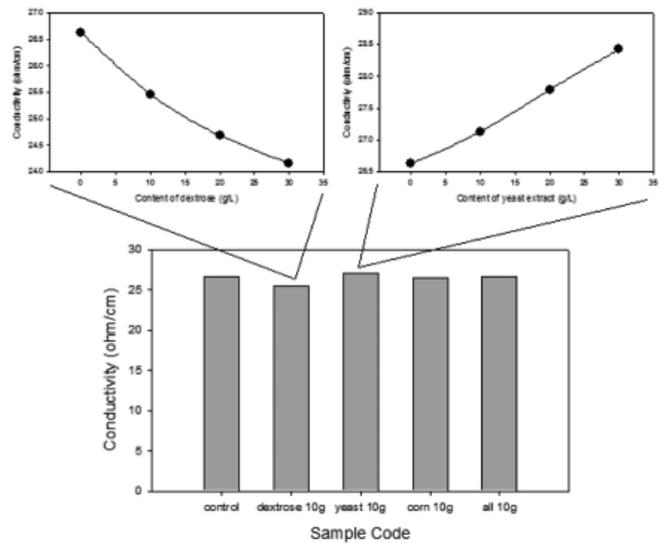


Figure 7. Conductivities of solutions containing various organic residues.

추출액은 용액의 전도도를 증가시켜 탈염효율을 다소 향상시킴을 알았다. 한편, 텍스트로즈의 경우에는 본 실험 범위 내에서는 탈염효율 저하가 발생하지 않았으나, 함량의 증가에 따라 용액의 전도도가 감소하므로 발효공정에서 충분히 소모시킨 후 탈염을 시도하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

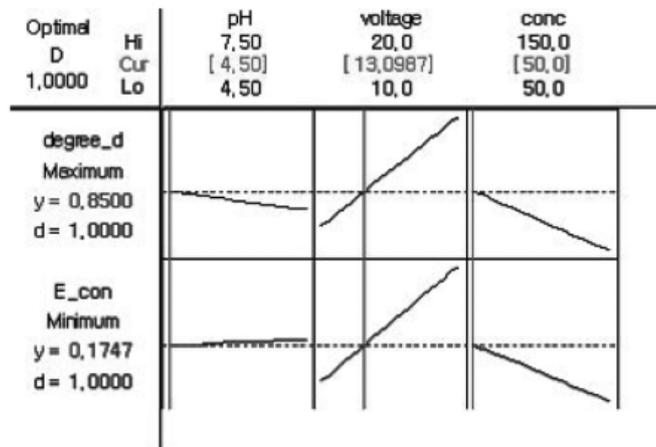


Figure 6. Result from the response optimizer regarding degree of desalination and energy consumption as responses.

4. 결 론

발효공정에 의한 유기산 생산에 필수 정제공정인 전기투석실험을 수행하여 전기투석공정의 탈염도 및 에너지 소비량을 결정하는 주요 인자들을 2 수준 완전요인 설계를 이용한 실험계획법을 통해 결정하였다. 탈염도와 에너지 소비량에는 모두 전압, 초기 농도가 주요한 효과를 보이는 변수이었으며, 그 중에서도 전압에 가장 민감하게 반응함을 알 수 있었다. 농도의 경우도 효과가 있는 것으로 관찰되었으나, 다소 미미하였다. 한편 전압, 농도, pH 각 인자들의 상호작용은 관찰되지 않았다. 발효 잔류물이 탈염에 미치는 영향 고찰을 통해 이스트

참 고 문 헌

- Byrom, *Trends in Biotechnology*, **5**, 246 (1987).
- Illman, *Chemical & Engineering News*, **Sept. 6** (1993).
- R. Landucci, B. Goodman, and C. E. Wyman, *Appl. Biochem. and Biotechnol.*, **45**, 677 (1994).
- C. S. Millard, Y. P. Chao, J. C. Liao, and M. I. Donnelly, *Appl. and Environ. Microbiol.*, **62**, 1808 (1996).
- J. G. Zeikus, M. K. Jain, and P. Elankovan, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 545 (1999).
- D. J. Schell, C. J. Railey, N. Dowe, J. Farmer, K. N. Ibsen, M. F. Ruth, S. T. Toon, and R. E. Lumpkin, *Bioresour. Technol.*, **91**, 179 (2004).

7. B. Kamm and M. Kamm, *Chem. Biochem. Eng.*, **18**, 1 (2004).
8. H. Song and S. Y. Lee, *Enzyme and Microbial Technology*, **39**, 352 (2006).
9. V. A. Shaposhnik and K. Kesore, *J. Membr. Sci.*, **141**, 75 (1998).
10. G. Solt, *Desalination*, **100**, 15 (1995).
11. B. Chemseddine and R. Audinos, *Catalysis today*, **25**, 417 (1995).
12. S. Sridhar and C. Feldmann, *J. Membr. Sci.*, **124**, 175 (1997).
13. A. Nerebska and M. Kurantowicz, *Sep. Sci. Technol.*, **33**, 959 (1998).
14. D. A. Glassner, P. Elankovan, D. R. Beacom, and K. A. Berglund, *Appl. Biochem. and Biotech.*, **51**, 73 (1995).
15. J. A. Howell, V. Sanchez, and R. W. Field, *Membranes in bioprocessing: Theory and applications*, Chapman & Hall, London (1993)
16. E. J. Watkins and P. H. Pfromm, *J. Membr. Sci.*, **162**, 213 (1999)
17. V. Lindstrand, G. Sundstrm, and A. Jnnson, *Desalination*, **128**, 91 (2000)
18. U. S. Patent 5,573,931 (1996).