

바이오에너지 및 바이오화학원료인 C4-C6 생산

김병천 · 이성철 · 상병인[†]

한양대학교 공과대학 화공생명공학부
(2011년 9월 29일 접수)

Production of C4-C6 for Bioenergy and Biomaterials

Byung-Chun Kim, Sung Chul Yi, and Byoung-In Sang[†]

Department of Chemical Engineering, Department of Fuel Cells and Hydrogen Technology, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea
(Received September 29, 2011)

석유자원의 고갈이 에너지 및 화학원료물질로 재생 가능한 바이오매스의 이용성을 증가시키고 있다. 본 총설에서는 바이오에너지 및 바이오화학원료인 C4-C6 생산에 관해 논하고자 한다. 주요한 C4 물질인 *n*-butanol과 *n*-butyric acid를 다량 생산하는 미생물은 *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium acetobutylicum*이다. 대표적인 C6 물질인 *n*-hexanoic acid는 *Clostridium kluyveri*와 *Megasphaera elsdenii*가 다량 생산한다. 미생물 발효에 의해 보고된 *n*-butanol, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid의 최대 생산량은 각각 21, 55, 19 g/L이었다. 배양과정에서 이들 생산물의 제거는 최종산물억제의 감소로 미생물에 의한 *n*-butanol, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid의 생산량을 증가시켰다. 특히 C6 물질인 *n*-hexanoic acid는 *n*-hexanol로 될 수 있는 고 부가가치 물질로 생물학적 생산 연구가 꾸준히 진행 중인데, 신규한 미생물인 *Clostridium* sp. BS1은 galactitol을 이용하여 5 g/L의 *n*-hexanoic acid를 생산하였다.

Depletion of petroleum increased the need of alternative energy and chemical resources. Biomass, a renewable resource, can be transformed to bioenergy and biomaterials, and the materials from biomass will ultimately substitute petroleum based energy and chemical compounds. In this perspective, production of C4-C6 compounds for bioenergy and biomaterials are described for understating of current research progress. *n*-Butanol and *n*-butyric acid, the major C4 compounds, are produced by *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium beijerinckii*, and *Clostridium acetobutylicum*. *n*-Hexanoic acid, a typical C6 compound, is produced by *Clostridium kluyveri* and *Megasphaera elsdenii*. Reported maximum amount of *n*-butanol, *n*-butyric acid and *n*-hexanoic acid was 21, 55, and 19 g/L, respectively, and extraction of these C4-C6 compounds are induced increase production by those anaerobic bacteria. In addition, a new bacterium *Clostridium* sp. BS-1 produced 5 g/L of *n*-hexanoic acid using galactitol.

Keywords: biomaterials, bioenergy, butanol, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid

1. 서 론

원유 등의 화석 자원의 고갈에 의한 에너지 및 자원의 부족과 지구 온난화와 같은 환경문제는 재생 가능한 자원에서 화학원료물질과 연료의 생산 필요성을 어느 때보다 증가시키고 있다[1]. 현재 인류는 수송용 연료와 유기 화학용 원료물질의 대부분을 원유에서 얻고 있다. 대부분의 에너지 및 화학원료원료 물질을 수입에만 의존하는 대한민국의 경우 1970년대 석유파동과 같은 에너지 고갈의 위기에 대처할 수 있는 방법을 항상 모색해야 하는 실정이다. 이러한 상황에서 연간 $\sim 10^{20}$ joules의 에너지를 가지는 재생 가능한 바이오매스를[2] 재생 가능한 원료 물질로 활용하여 바이오화학물질과 바이오연료를 생산한다면 환경과 에너지 문제를 해결할 대안이 될 것이다. 이러한 대안의 필요로 인해, 미국의 경우 DOE에서는 2025년 까지 수송용 석유 연료

의 30%를 바이오연료로 대체하고, 산업용 유기 화학물질의 25%를 바이오매스 유래의 물질로 대체하기로 계획을 세웠다[3].

화석에너지를 대체할 수 있는 에너지자원 및 화학원료물질의 생산을 재생 가능한 자원에서 변환하고자 하는 연구는 이미 20세기의 초에 상당한 진척이 있었다. 당시 연료, 유기용매, 합성섬유 등의 많은 산업용 원재료가 식물유래의 작물로부터 만들어 졌다. 하지만 1960년대 후반부터 이들 생물기반의 화학원료제품들은 석유유래의 물질로 대체되어 1925년 약 35%에서 1989년에는 16% 이하로 감소하였다[4].

폐기물을 포함한 바이오매스의 탄수화물은 alcohols, carboxylic acid, ethers, esters 등의 바이오연료 및 바이오화학원료로 변화될 수 있다. 특히 biorefinery process에서 당류 물질은 미생물, 효소 혹은 화학적인 변화에 의해 alcohols와 C3-C6 carboxylic acids를 포함한 중요한 기초단위의 화학물질들로 전환될 수 있다[5]. 재생 가능한 자원의 이용은 바이오에탄올과 바이오디젤의 단순 생산공정에서 시작되었지만, 바이오유래의 생물소재자원의 이용성에 있어서 다음세대의 변화는

[†] 교신저자(e-mail: biosang@hanyang.ac.kr)

혁신적인 식물자원, 바이오물질의 합성, 바이오연료 그리고 바이오에너지의 전체적인 통합을 요구하고 있다[5].

재생 가능한 식물성원료 물질에서 유래한 바이오연료로 C2 물질인 에탄올의 생산 및 이용은 많은 부분 진행되고 있으나, C4 물질인 *n*-butanol 혹은 그 이상의 탄소를 가지는 알코올 및 유기산의 개발 및 실용화는 아직 미진한 상태이다. 본 총설은 바이오에너지 및 바이오화학원료로 사용이 용이한 C4-C6 물질 중 *n*-butanol, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid의 생산과 관련된 미생물 개발 및 최근 연구에 관해 논하고자 한다.

2. C4 바이오화학원료인 *n*-butanol과 *n*-butyric acid의 생산

대표적인 C4 물질인 *n*-butanol과 *n*-butyric acid는 주로 *Clostridium* 속의 혐기성세균에 의해 acetone-butanol-ethanol (ABE) 발효로 생산된다[6]. ABE 발효에 의한 *n*-butanol과 *n*-butyric acid의 생물학적 생산은 오래 전부터 연구되어 왔는데, 석유화학산업이 ABE 발효 산물을 대체하기 전인 20세기 초에는 가장 큰 산업적 발효 공정의 하나였다. 바이오부탄올(biobutanol)은 바이오에탄올(bioethanol)에 비하여 높은 에너지 함유량을 가지고, 물과 잘 섞이지 않고, 휘발성이 낮다는 등의 장점이 있어 가솔린을 대체할 수 있는 수송용 연료로 각광 받고 있다. 더욱이 바이오부탄올은 현재 차량엔진에 바로 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다[7]. 이러한 장점에도 불구하고 미생물에 의한 *n*-butanol의 생산은 바이오에탄올에 비해 낮은 생산성과 낮은 최종 산물의 농도, 생산 미생물의 *n*-butanol 생산성이 감소하는 퇴화(degeneration) 등의 문제를 가지고 있다.

2.1. C4 생산 미생물

n-Butanol을 주로 생산하는 대표적인 미생물은 *Clostridium beijerinckii*와 *Clostridium acetobutylicum*으로 둘 다 ABE 발효를 한다. *C. beijerinckii*는 *C. acetobutylicum*에서 재 분류된 편성 혐기성 포자 형성 미생물이다. *C. beijerinckii*는 다른 ABE 발효 균주와 마찬가지로 산생성(acidogenesis)과 용매생성(solventogenesis) 단계를 거쳐서 acetone과 *n*-butanol을 만든다. 산생성 단계에서 생산된 acetic acid와 butyric acid가 용매생성 단계에서 다시 이용되어 acetone과 *n*-butanol로 전환되는 것이다. *C. beijerinckii* NCIMB 8052 균주 유래의 돌연변이 균주인, *C. beijerinckii* BA101은 지금까지 보고된 모든 미생물에 의한 *n*-butanol 생산량과 비교하여 가장 많은 양인 17~21 g/L의 *n*-butanol을 생산한다[8]. *C. beijerinckii* NCIMB 8052의 발효에 의한 *n*-butanol 생산 과정에 *n*-butyric acid의 첨가는 *n*-butanol의 생산량을 증가시키고 연속배양에서 자주 발생되는 *C. beijerinckii*의 퇴화가 억제되어 *n*-butanol이 계속적으로 생산되게 한다(Figures 1 and 2)[7]. *C. beijerinckii* NCIMB 8052는 유전물질로 하나의 원형 게놈만을 가지고 플라스미드 DNA는 가지지 않으므로 이 미생물의 퇴화는 게놈 DNA의 변화에 기인된다[9]. 탄소의 흐름을 *n*-butanol 생산으로 최적화하기 위한 시도의 한 방편으로 최근에는 *C. beijerinckii* NCIMB 8052의 전체 게놈을 대상으로 연구한 게놈기준의 대사모델(genome-scale metabolic model)도 제시되었다[10]. 한편에서는 새로운 *C. beijerinckii* 균주의 배양조건 최적화 및 기존 균주의 돌연변이로 *n*-butanol 생산량을 높이는 시도가 계속되고 있다[11,12].

C. acetobutylicum ATCC 824는 탄수화물을 이용한 산업용 ABE 발효에 오랫동안 사용된 미생물로 포도당, xylose, cellobiose, 전분, xy-

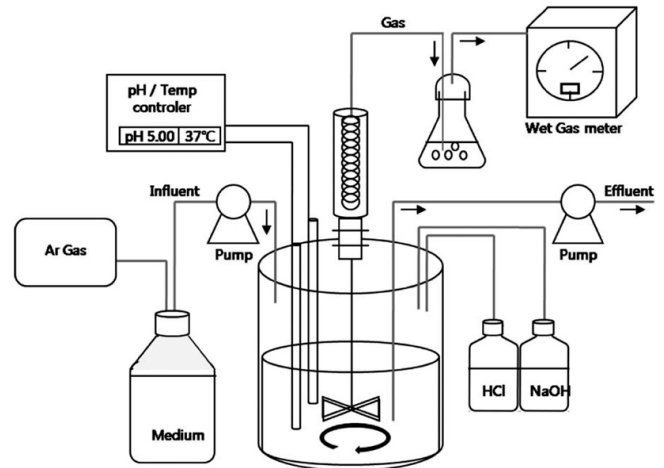


Figure 1. Schematic diagram of a continuous reactor.

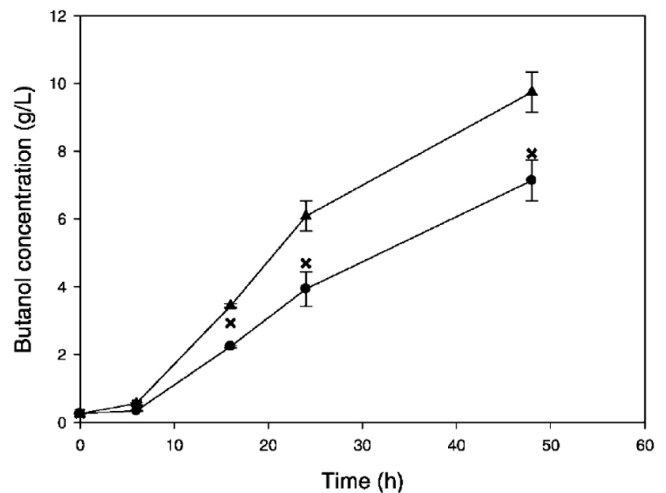


Figure 2. Comparison of butanol production levels by *C. beijerinckii* NCIMB 8052 in batch cultures with butyric acid addition. Butanol concentration with 0 mM butyrate (●), butanol concentration with 18 mM butyrate (▲), and butanol concentration calculated on the basis of 100% conversion of 18 mM butyrate to butanol (×).

lan 등의 다양한 탄소원을 이용하여 *n*-butanol을 생산한다[13]. *C. acetobutylicum* ATCC 824도 연속적인 발효를 진행하면 미생물의 퇴화로 *n*-butanol 생산이 감소된다. *C. acetobutylicum* ATCC 824의 퇴화는 용매 생산 유전자가 포함되어 있는 pSOL1이라는 210 kb의 플라스미드 DNA 결손으로 나타난다. *C. acetobutylicum*도 *n*-butanol 생산 증진을 위해 게놈기준의 대사모델이 제시되었다[14].

n-Butyric acid를 발효로 생산하는 대표적인 미생물은 *Clostridium tyrobutyricum*이다. 많은 미생물이 *n*-butyric acid를 생산한다고 보고되어 있는데, *C. tyrobutyricum*은 *n*-butyric acid 생산에 있어서 가장 높은 순도와 수율을 가진다[15]. 다른 대부분의 유기산 생산 미생물과 같이 *C. tyrobutyricum*의 *n*-butyric acid 생산은 최종 대사산물에 의해 저해를 받는데[16], 대사산물 저해를 해소하기 위해 미생물의 발효와 생산물의 추출을 동시에 진행하면 *n*-butyric acid의 생산이 증가된다[17]. 한편 다공성 폴리우레탄담체에 고정된 *C. tyrobutyricum* ATCC 25755를 유기배양한 결과 53 g/L의 butyric acid가 생산되었다(Figure 3)[18]. 또한 당밀을 이용한 유기배양에서도 고정된 *C. tyrobutyricum*은 55

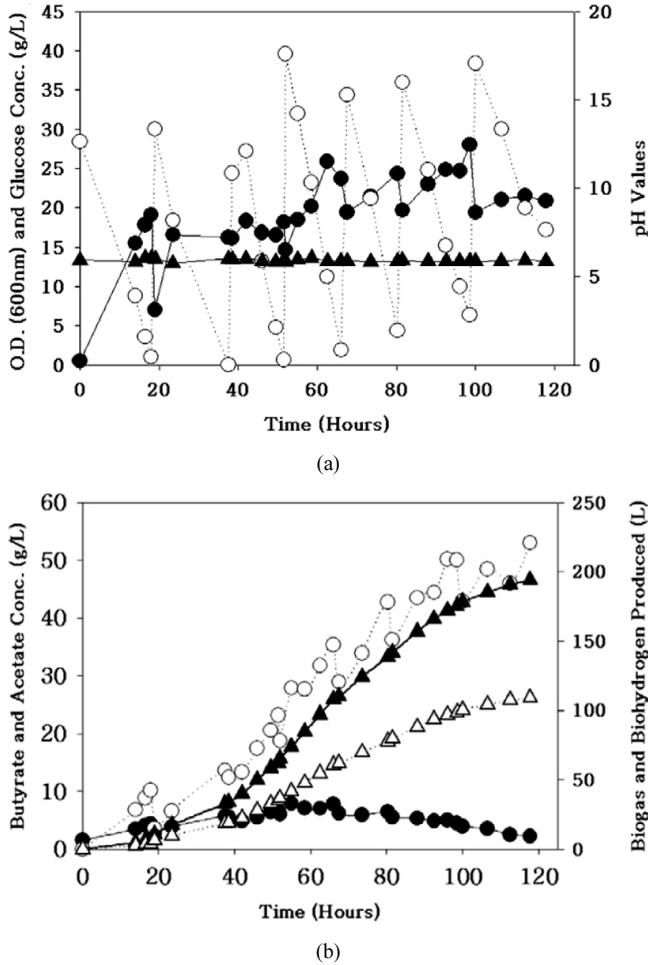


Figure 3. Volatile fatty acid production from the fed batch operation with *C. tyrobutyricum*. (a) Values for the optical density (●), pH (▲) and glucose concentrations (○) and (b) Results showing the total biogas (▲) and bio-hydrogen (△) produced and the volatile fatty acid concentrations (acetate (●) and butyrate (○)).

g/L의 *n*-butyric acid를 생산하였다[19].

3. C6 바이오화학원료인 *n*-Hexanoic Acid의 생산

n-Hexanoic acid는 caproic acid라고도 칭하는 6개의 탄소를 가지는 직선형의 지방산으로 천연지방(natural fats)에 소량씩 발견되고 triglyceride의 가수분해로 소량 생산되는 부산물이다[20]. 생산량이 적어, *n*-hexanoic acid의 상업용 이용은 주로 향신료나 다른 hexyl esters 등의 화학물질 전구체로 이용되었[21], 미생물의 발효에 의한 생산은 *n*-butanol이나 *n*-butyric acid에 비해 덜 알려져 있다. 하지만 다른 carboxylic acid와 마찬가지로 단순한 촉매 반응으로 *n*-hexanol로 전환되어 에너지원으로 사용될 수 있는 장점을 가지고 있다. Levy 등은 *n*-hexanoic acid가 비싸지 않은 원료 물질로부터 생산되고 Kolbe 전기 분해(electrolysis)를 이용하여 alkane fuels로 변환되는 성질을 이용하면, *n*-hexanoic acid의 시장이 크게 팽창할 것으로 예상했었다[22-24].

3.1. Hexanoic Acid 생산 미생물

n-Hexanoic acid는 미생물배양에 의한 직접 발효로 생산될 수 있다.

미생물 중 최초로 보고된 *n*-hexanoic acid 생산 균은 1942년에 발표된 혐기성 세균인 *Clostridium kluveri*[25]로 hexanoic acid 생산 관련 연구가 가장 많이 진행된 균 중에 하나이기도 하다. 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum*는 pyruvic acid를 발효하여 암반응 상태의 혐기 조건에서는 CO₂, acetic acid, propionic acid를 생산하지만, 암반응 상태의 호기 조건에서는 CO₂, H₂, acetic acid, propionic acid, *n*-butyric acid, valeric acid 및 *n*-hexanoic acids를 생산한다[26]. *Clostridium scatologenes*는 *n*-butyric acid 보다 탄소수가 많은 지방산을 발효의 최종 대사산물로 만든다고 보고되었고 추후에 이 대사산물이 *n*-hexanoic acid로 확인되었[27,28]. 당밀을 주식으로 섭취한 양의 위액에서는 methanol 이용 세균이 다수의 미생물 군집을 차지한다. 이들 methanol 이용 균으로 분리된 *Eubacterium limosum*은 methanol로부터 acetic acid, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid를 생산하였[29]. *Peptostreptococcus elsdenii*는 소나 양의 위확대증에 관여하는 위 미생물을 조사하는 과정에서 분리되어 보고된 균으로 이 종에 속하는 균주들은 유산으로부터 CO₂, H₂, acetic acid, propionic acid, *n*-butyric acid 및 valeric acid를 생산하고, 포도당 발효로 *n*-hexanoic acid를 생산하는 그람염색 음성의 ruminal bacterium이다[30]. Giesecke 등도 돼지의 맹장에서 발견된 5개의 *P. elsdenii* 균주가 유산으로부터 acetic acid, propionic acid, *n*-butyric acid 및 valeric acid 생산하고 포도당으로부터 *n*-hexanoic acid를 생산한다고 보고했[31]. 1959년에 처음 발표된 *P. elsdenii* Gutierrez *et al.*은 1971년에 *Megasphaera elsdenii*로 재분류되었다[32]. *M. elsdenii*는 포도당, maltose, lactate 및 sucrose을 이용하여 acetic acid, *n*-butyric acid 그리고 최종적으로 *n*-hexanoic acid를 생산하는데, NADH₂ 생산과정에서 pyruvate의 대사에서 유도된 acetyl-CoA의 일련의 축합반응으로 *n*-hexanoic acid가 생산된다[33]. 포도당이나 유산이 포함된 배지에서 acetic acid가 배지 중에 있을 경우 *M. elsdenii*의 초기 생육은 촉진되지만 acetic acid의 첨가가 *n*-butyric acid의 생산량 증가를 유도하고 *n*-hexanoic acid의 생산량은 감소시켰다[34,35]. 최근에는 이 균주가 가지는 다양한 휘발성 유기산의 생물공학적 관심도가 증가되면서 표준 균주인 *M. elsdenii* DSM 20460의 계통 서열 분석도 완료되었[36].

혐기성 발효는 최종 산물에 의해 저해를 받게 되는데[37], *M. elsdenii*도 최종 대사산물에 의한 생육이 저해를 받았다. 저해의 정도는 대사산물인 지방산이 길어질수록 증가한다[33]. *M. elsdenii* ATCC25940은 포도당을 이용하여 6~8 g/L의 *n*-hexanoic acid를 30% (g/g) 수율로 생산하였다. 이온교환 수지인 amberlite IRA-400가 포함된 배양기에서 고정화된 *M. elsdenii*를 이용하여 유가배양 시, *n*-hexanoic acid의 생산은 19 g/L로 수율은 30%로 각각 증가하였[38].

*C. kluveri*는 특이하게도 ethanol과 acetate 혹은 succinate를 이용하여 H₂, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid를 생산할 수 있다[6,39]. *C. kluveri*의 *n*-hexanoic acid 생산에는 *C. kluveri*가 이용하지 못하는 바이오매스를 발효할 수 있는 다른 미생물균주의 발효산물의 이용도 시도되었다. Kenealy 등은 *C. kluveri*와 다른 두 종의 cellulose 분해 세균인 *Fibrobacter succinogenes*와 *Ruminococcus flavefaciens*의 혼합 배양 실험을 하였다[40]. 반추동물 위 유래의 세균인, *F. succinogenes*와 *R. flavefaciens*는 가장 빨리 자란다고 알려진 cellulose 발효균으로 단독 배양에서 최종 발효산물인 acetic acid와 succinic acid를 2 g/L 생산한다[41,42]. Cellulose 분해 세균과 *C. kluveri* 혼합 배양에서는 cellulose와 ethanol을 기질로 이용하여 상당한 양의 *n*-hexanoic acid가 생산되었다. 혼합 배양에서 6.0 g/L의 cellulose와 4.4 g/L의 ethanol이 2.6 g/L *n*-butyric acid와 4.6 g/L *n*-hexanoic acid로 변환되었다. 이 결

Table 1. Volatile Fatty Acid Production by *Clostridium* sp. BS-1 in Diverse Culture Conditions

| Culture conditions | Galactitol consumption ^a | VFA (g /L) ^a | | | pH |
|--|-------------------------------------|-------------------------|--------------|---------------|-------------|
| | | Acetic acid | Butyric acid | Hexanoic acid | |
| mCAB | - | 0.40 ± 0.14 | 0.27 ± 0.06 | 0.32 ± 0.05 | 6.54 ± 0.05 |
| mCABGa ^b | 4.08 ± 0.01 ^c | 0.36 ± 0.01 | 0.44 ± 0.01 | 0.98 ± 0.03 | 4.88 ± 0.05 |
| mCABGa + 1.5 g L ⁻¹ sodium acetate | 6.31 ± 0.04 | 1.16 ± 0.10 | 1.06 ± 0.05 | 1.22 ± 0.04 | 4.84 ± 0.03 |
| mCABGa + 100 mM MES | 4.80 ± 0.18 | 0.49 ± 0.08 | 0.55 ± 0.07 | 1.73 ± 0.19 | 6.14 ± 0.03 |
| mCABGa + 100 mM MES + 1.5 g L ⁻¹ sodium acetate | 10.00 ± 0.18 | 1.27 ± 0.19 | 1.07 ± 0.2 | 2.99 ± 0.22 | 6.02 ± 0.05 |

^a Data were analyzed after 4-day cultivation in each medium.

^b mCAB medium containing galactitol.

^c Values are mean ± standard deviation (n = 3).

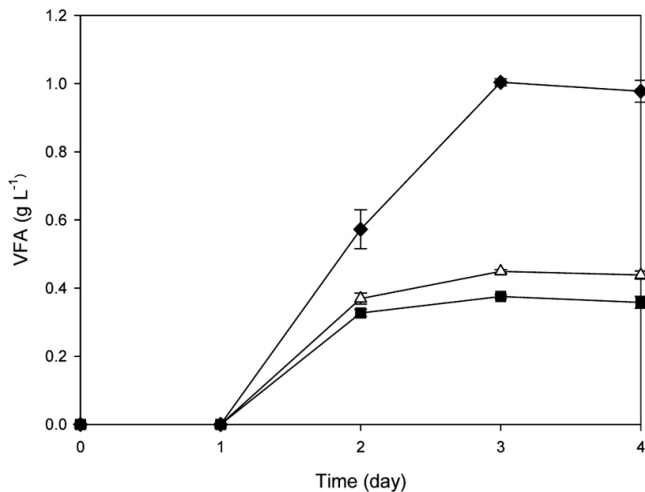


Figure 4. Volatile fatty acid production by *Clostridium* sp. BS-1 in mCABGa medium. Symbols : acetic acid (■), butyric acid (△), and hexanoic acid (◆).

과에서 cellulose에서 효과적으로 소량의 ethanol과 acetic acid 혹은 succinic acid를 생산하는 세균이 *n*-hexanoic acid 생산을 위한 혼합배양에 유용함이 증명되었다[40].

3.2. Hexanoic Acid 생산 신규 미생물 *Clostridium* sp. BS-1

한편 해초인 Ceylon moss는 galactose (23%) 및 glucose (20%)를 포함하는 등 다량의 탄수화물을 함유하므로 육상 식물에 비하여 상당한 바이오에너지 생산 잠재력을 가지고 있다[43]. 해초의 구성성분 중의 하나인 galactose는 aldose reductase 혹은 화학 촉매에 의한 hydrogenation 반응으로 galactitol로 변환될 수 있다. 최근 본 연구 팀에서는 해초에서 유래한 galactitol을 이용하여 바이오 화학 혹은 바이오 에너지 물질을 생산하는 혐기성 미생물을 자연계의 시료를 대상으로 분리하였다. 도시생활 하수 처리장 혐기 소화조의 활성 슬러지(sludge)를 미생물 시료로 사용한 배양에서 galactitol을 이용하는 수종의 *Clostridium* 속의 미생물을 분리하였다. 이 중 하나인 *Clostridium* sp. BS-1은 통상 알려진 혐기 발효산물인 acetic acid, *n*-butyric acid와 더불어 *n*-hexanoic acid를 생산하였다(Figure 4)[44].

기준에 *n*-hexanoic acid 생산균으로 보고된 *C. kluyveri*의 경우 유기산을 생산하는 다른 미생물과의 혼합 배양으로 *n*-hexanoic acid의 생산량이 증가됨이 보고되었는데, 비슷한 결과가 *Clostridium* sp. BS-1

에 의한 *n*-hexanoic acid 생산에도 관찰되었다. Galactitol을 분해하는 슬러지 배양에서 분리된 *Clostridium* 속의 균 중 acetic acid를 다량 생산하는 미생물 균주와 *Clostridium* sp. BS-1의 혼합 배양에서 *n*-hexanoic acid의 생산이 증가됨이 관찰되었다. 또한 단독 배양에서도 acetic acid를 첨가한 배양에서 *n*-hexanoic acid의 생산이 증가되었다[44].

Clostridium sp. BS-1은 10 g/L의 galactitol과 0.23 g/L의 sodium acetate를 이용하여 1 g/L의 *n*-butyric acid와 2.9 g/L의 *n*-hexanoic acid를 생산하였다. 또한 acetic acid를 생산하는 다른 *Clostridium* sp. 균주와의 혼합배양에서 10 g/L의 galactitol을 소비하여 0.7 g/L의 acetic acid, 0.8 g/L의 *n*-butyric acid 그리고 2.7 g/L의 *n*-hexanoic acid를 생산하였다. *n*-Hexanoic acid의 생산량 증가를 위해 배양조건을 변화한 경우 *Clostridium* sp. BS-1은 5 g/L까지의 hexanoic acid를 만들 수 있었다. 산화환원전위에 영향을 미치는 환원제가 *Clostridium* 속 미생물의 성장을 촉진한다[45]. MES, Na₂S · 9H₂O 혹은 cystein HCl을 첨가한 배지에서 *Clostridium* sp. BS-1의 *n*-hexanoic acid 생산은 증가되었다(Table 1)[44].

4. 추 출

재생 가능한 자원에서 화학원료물질과 연료의 생산은 원료물질의 생산 및 회수가 가능한 하나의 시스템을 필요로 한다. 발효로 생산된 유기산인 acetic acid, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid 등은 물과 혼합되지 않는 유기용매에 의해 수용액에서 쉽게 추출될 수 있다[22-24]. 이러한 성질을 이용하여 추출발효(extractive fermentation)와 같이 발효와 분리 공정을 통합한 처리는 발효 최종산물에 의한 생산 억제를 저감시키고 최종 산물의 수율과 생산량을 증가시킨다[46,47].

n-Butyric acid의 생산성 향상 및 추출을 위한 추출 발효에서 *n*-butyric acid는 증공사막(hollow-fiber membrane)을 통하여 oleyl alcohol과 alamine 336의 혼합액으로 추출된다(Figure 5)[17]. 증공사막 추출기는 추출발효에서 발생 할 수 있는 층분리(phase separation)를 극복하고 유기용매와 물층의 직접적인 접촉방지를 위해 사용된다[48,49].

Clostridium sp. BS-1의 경우 생산된 휘발성 유기산을 유기용매를 사용하여 추출함과 동시에 연속 배양하면 *n*-hexanoic acid의 생산이 증가되었다. 단순 추출의 경우 질산을 이용하여 배양액의 수소이온농도를 pH 3으로 낮추어 각각의 휘발성유기산에 대한 pKa 값 이하 상태를 유지시킨 경우 추출효율이 증가되었다. 한편 CO₂를 약 10~50 bar로 가압하여 형성된 중탄산으로 pH가 낮아지는 CO₂ 고압 반응기에서도 *Clostridium* sp. BS-1가 생산한 *n*-hexanoic acid는 효과적으로 유기용매 층으로 추출되었다.

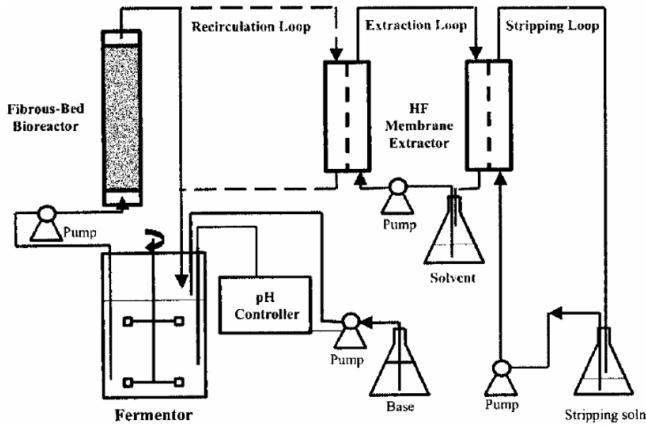


Figure 5. A fermentation and extraction process using immobilized cells and hollow-fiber membrane extractors.

5. 결 론

본고에서는 바이오에너지 및 바이오화학원료 물질인 C4-C6 물질의 생산에 관하여 살펴보았다. C4 물질인 *n*-butanol과 *n*-butyric acid 그리고 C6 물질인 *n*-hexanoic acid를 탄수화물을 이용하여 발효하는 과정에서 생산하는 미생물 여러 종이 보고되어 있었다. *n*-butanol, *n*-butyric acid, *n*-hexanoic acid의 최대 생산 미생물은 각각 *C. beijerinckii*, *C. tyrobutyricum*, *M. elsdenii*이었고, 최대 생산량은 각각 21, 55, 19 g/L이었다. 또한 미생물에 의해 생산된 유기산은 최종산물저해를 유발하므로 유기용매를 사용하여 추출 반응을 진행하면 유기산의 생산량이 증가한다. 그 중요성은 알려져 있으나 연구가 미진했던 *n*-hexanoic acid의 미생물 발효에 의한 생산에 관하여 지금까지의 연구결과를 종합하여 조명하였고, 최근 보고된 신균주인 *Clostridium* sp. BS-1의 *n*-hexanoic acid의 생산 및 추출을 정리하였다.

에너지와 화학원료물질 고갈의 문제 해결을 위해 지속 가능한 대체 에너지 자원의 개발이 중용한 시점에 미생물에 의한 C4-C6 화합물, 특히 C6의 발효에 의한 생산 연구는 새로운 대안을 제시해 줄 것으로 사료된다.

감 사

This work is the outcome of a Manpower Development Program for Energy supported by the Ministry of Knowledge and Economy (MKE).

참 고 문 헌

1. M. Kleinert and T. Barth, *Energy & Fuels*, **22**, 1371 (2008).
2. M. Parikka, *Biomass Bioenergy*, **27**, 613 (2004).
3. H. L. Chum and R. P. Overend, *Advances in Solar Energy: an Annual Review*, ed. Y. Goswami, 83, American Solar Energy Society, Boulder (2003).
4. P. Forward, Food Bureau, Market and Industry Services Branch, Dept of Agriculture and Agri-Food, Ottawa (1994).
5. A. J. Ragauskas, C. K. Williams, B. H. Davison, G. Britovsek, J. Cairney, C. A. Eckert, W. J. Frederick, Jr., J. P. Hallett, D. J. Leak, C. L. Liotta, J. R. Mielenz, R. Murphy, R. Templer, and T. Tschaplinski, *Science*, **311**, 484 (2006).

6. B. H. Kim and G. M. Gadd, *Bacterial physiology and metabolism*. Cambridge University Press, Cambridge (2008).
7. S.-M. Lee, M. O. Cho, C. H. Park, Y.-C. Chung, J. H. Kim, B.-I. Sang, and Y. S. Um, *Energy Fuels*, **22**, 3459 (2008).
8. J. Formanek, R. Mackie, and H. P. Blaschek, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 2306 (1997).
9. S. R. Wilkinson and M. Young, *J. Bacteriol.*, **177**, 439 (1995).
10. C. B. Milne, J. A. Eddy, R. Raju, S. Ardekani, P. J. Kim, R. S. Senger, Y. S. Jin, H. P. Blaschek, and N. D. Price, *BMC Syst. Biol.*, **5**, 130 (2011).
11. S. A. Survase, G. Jurgens, A. van Heiningen, and T. Granstrom, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **91**, 1305 (2011).
12. T. Guo, Y. Tang, Y. L. Xi, A. Y. He, B. J. Sun, H. Wu, D. F. Liang, M. Jiang, and P. K. Ouyang, *Biotechnol. Lett.*, doi: 10.1007/s10529-011-0702-9 (2011).
13. D. T. Jones and D. R. Woods, *Microbiol. Rev.*, **50**, 484 (1986).
14. J. Lee, H. Yun, A. M. Feist, B. O. Palsson, and S. Y. Lee, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **80**, 849 (2008).
15. D. Michel-Savin, R. Marchal, and J. P. Vandecasteele, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 172 (1990).
16. D. Michel-Savin, R. Marchal, and J. P. Vandecasteele, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **33**, 127 (1990).
17. Z. Wu and S. T. Yang, *Biotechnol. Bioeng.*, **82**, 93 (2003).
18. R. J. Mitchell, J. S. Kim, B. S. Jeon, and B. I. Sang, *Bioresour. Technol.*, **100**, 5352 (2009).
19. L. Jiang, J. Wang, S. Liang, X. Wang, P. Cen, and Z. Xu, *Bioresour. Technol.*, **100**, 3403 (2009).
20. E. T. Sauer, *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*, ed. M. Howe-Grant, 179, Wiley-Interscience, New York (1992).
21. S. Budavari, *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologics*, Merck, Rahway (1989).
22. P. F. Levy, J. E. Sanderson, E. Ashare, and S. R. d. Riel, *CRC liquid fuels developments*, ed. D. L. Wise, 159, CRC Boca Raton, Fla (1983).
23. P. F. Levy, J. E. Sanderson, E. Ashare, D. L. Wise, and M. S. Molyneaux, *Liquid fuels production from biomass*. US Department of Energy, Washington (1980).
24. P. F. Levy, J. E. Sanderson, R. G. Kispert, and D. L. Wise, *Enzyme. Microb. Technol.*, **3**, 207 (1981).
25. H. A. Barker and S. M. Taha, *J. Bacteriol.*, **43**, 347 (1942).
26. E. F. Kohlmeier, Jr. and H. Gest, *J. Bacteriol.*, **61**, 269 (1951).
27. R. F. Rosenberger, Ph. D. Dissertation, Edinburgh University, Edinburgh (1952).
28. L. V. Holdeman, E. P. Cato, and W. E. C. Moore, *Anaerobe laboratory manual*, 4th, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg (1977).
29. B. R. Genthner, C. L. Davis, and M. P. Bryant, *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 12 (1981).
30. J. Gutierrez, R. E. Davis, I. L. Lindahl, and E. J. Warwick, *Appl. Microbiol.*, **7**, 16 (1959).
31. D. Giesecke, S. Wiesmayr, and M. Ledinek, *J. Gen. Microbiol.*, **64**, 123 (1970).
32. M. Rogosa, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **21**, 187 (1971).
33. F. A. Roddick and M. L. Britz, VIIth Australian Biotechnology Conference Melbourne, 386 (1986).
34. M. P. Bryant and I. M. Robinson, *J. Bacteriol.*, **84**, 605 (1962).
35. T. Hino, K. Miyazaki, and S. Kuroda, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **37**, 121 (1991).

36. H. Marx, A. B. Graf, N. E. Totto, G. G. Thallinger, D. Mattanovich, and M. Sauer, *J. Bacteriol.*, **193**, 5578 (2011).
37. A. A. Herrero, *Trends Biotechnol.*, **1**, 49 (1983).
38. F. A. Roddick and M. L. Britz, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **69**, 383 (1997).
39. W. R. Kenealy and D. M. Waselefsky, *Arch Microbiol.*, **141**, 187 (1985).
40. W. R. Kenealy, Y. Cao, and P. J. Weimer, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **44**, 507 (1995).
41. Y. Shi and P. J. Weimer, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2583 (1992).
42. P. J. Weimer, *Arch. Microbiol.*, **160**, 288 (1993).
43. S. G. Wi, H. J. Kim, S. A. Mahadevan, D. J. Yang, and H. J. Bae, *Bioresour. Technol.*, **100**, 6658 (2009).
44. B. S. Jeon, B. C. Kim, Y. Um, and B. I. Sang, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **88**, 1161 (2010).
45. M. V. Smith and M. D. Pierson, *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 978 (1979).
46. R. Bar and J. L. Gainer, *Biotechnol. Progr.*, **3**, 109 (1987).
47. C. Weinhhammer and E. Blass, *Chem. Eng. Technol.*, **17**, 365 (1994).
48. R. Basu and K. K. Sirkar, *AIChE J.*, **37**, 383 (1991).
49. R. Basu and K. K. Sirkar, *J. Membr. Sci.*, **75**, 131 (1992).