

맥주 폐 효모액의 당화 및 에탄올 발효능

강민경 · 김민아* · 유보완 · 박종곤†

경북대학교 화학공학과
702-701 대구시 북구 대학로 80
*계명대학교 화학공학과
704-701 대구시 달서구 달구벌대로 1095
(2013년 8월 7일 접수, 2013년 8월 26일 수정본 접수, 2013년 9월 2일 채택)

Saccharification and Fermentation Capability of the Waste from Beer Fermentation Broth

MinKyung Kang, Minah Kim*, Bowan Yu and Joong Kon Park†

Department of Chemical Engineering, Kyungpook National University, 80 Daehak-ro, Buk-gu, Daegu 702-701, Korea
*Department of Chemical Engineering, Keimyung University, 1095 Dalgubeoldae-ro, Dalseo-gu, Daegu 704-701, Korea
(Received 7 August 2013; Received in revised form 26 August 2013; accepted 2 September 2013)

요 약

맥주 폐 효모액(waste from beer fermentation broth, WBFB)은 바이오 에탄올 생산을 위한 우수하고 저렴한 원료이다. 본 연구에서는 바이오 에탄올 생산을 위해 WBFB의 당화능과 발효능을 확인하는 실험을 진행하였다. 당화능은 온도를 30, 40, 50, 60, 70 °C로 다르게 하여 실험했는데 온도가 올라감에 따라 당화능은 증가하였고 4시간 후 60 °C와 70 °C에서 많은 양의 glucose가 생산되었다. WBFB와 chemically defined media (CDM) 혼합물에서는 어떠한 미생물의 첨가 없이도 발효가 되어 에탄올이 생산되었다. 동시당화발효능을 30, 40, 50, 60 °C의 다양한 온도에서 실험해본 결과 30 °C에서 에탄올이 가장 많이 생산되었다. 또 이 실험은 WBFB, starch 용액 그리고 CDM을 이용하여 수행하였는데 WBFB에 있는 당화 효소와 효모가 어떠한 추가적 미생물 첨가 없이 당화와 발효를 가능케 하는 요인이었다.

Abstract – The waste from beer fermentation broth (WBFB) has been found an excellent and inexpensive resource for bioethanol production. We tried to evaluate the saccharification and fermentation capabilities of WBFB to confirm its effectiveness for bioethanol production. The saccharification potentials of the WBFB were evaluated at various temperatures (30, 40, 50, 60 and 70 °C). It was found that the saccharification capabilities increased with temperature and highest reached maximum at 60 °C and 70 °C after 4h. Ethanol production from a mixture of WBFB and chemically defined media (CDM) without addition of any microbial species confirmed the fermentation capabilities of WBFB. Simultaneous saccharification and fermentation were performed using WBFB, starch solution and CDM as culturing media. The maximum yield of bioethanol production was obtained at 30 °C. The saccharifying enzymes and the yeast cells present in WBFB were essential factors for the production of bioethanol from WBFB without any additional enzymes or microbial cells.

Key words: Bio-ethanol, Thermotolerant Yeast, SSF, WBFB

1. 서 론

글로벌 사회는 환경오염, 에너지 보안 및 미래의 석유 공급에 대한 우려 증가로 인해 대체 에너지와 재생 가능한 비 석유계 원료에 관심을 보이고 있다[1-5]. 화석연료 사용 시 발생하는 다양한 형태의 유독가스와 처리되지 않은 폐기물은 환경문제를 야기시킨다[6].

바이오 에탄올은 화석연료와 달리 탄수화물의 당화와 당의 발효를 통해 생산되는 대체 및 신재생 에너지이다[5-7]. 바이오 에탄올은 높은 기화잠열과 연소 시 독성 화합물이 많이 방출되지 않는 우수한

연료 특성을 가지고 있지만[8], 생산비용이 상대적으로 높다는 문제점을 가지고 있다[5,9]. 이 문제를 해결하기 위해 사탕수수, 미세조류, 수수, 짚, 옥수수, 산업 폐기물, 농업 잔류물과 같은 저렴하면서도 재생 가능한 자원으로부터 바이오 에탄올을 생산하려는 많은 시도가 있었다. 현재 상용되는 바이오 에탄올은 대부분 사탕수수, 옥수수, 사탕무와 밀 등의 당-전분질 계 바이오 매스로부터 생산된다. 현재 가동 중인 당-전분질 계 바이오 매스로부터 바이오 에탄올을 생산하는 공정은 전통적인 발효 기술이 적용된다. 바이오 에탄올 주요 생산국인 미국은 주로 옥수수로부터, 브라질은 사탕수수로부터 생산한다. 브라질의 경우 전체 수송연료의 70% 이상을 사탕수수에서 비롯된 바이오 연료와 휘발유를 혼합한 연료를 사용하는데[16] 다른 나라에서는 사

† To whom correspondence should be addressed.
E-mail: parkjk@knu.ac.kr

탄수화물의 생산 원가가 비싸 가격 경쟁력이 없는 것으로 알려져 있다.

바이오 에탄올 생산량이 급격히 늘어나면서 원료인 곡물 가격의 폭등 문제가 야기되어[15] 원료수급 안정성에 대한 우려가 증가하였고, 이에 대한 대안으로 목질섬유소 계 에탄올이 세계적으로 연구가 발되고 있다. 목질섬유소 계 바이오 매스는 전처리 공정을 통해 lignin과 hemicellulose를 제거하여 셀룰로오스를 추출한 후 당화공정을 통해 단당류로 분해시키고 발효공정을 거쳐 에탄올로 전환된다. 전처리 공정에 사용되는 화학첨가제는 산, 알칼리, 암모니아, 오존, 산소, 유기용매 등이 있다[23,24]. 그러나 목질섬유소 계 원료는 lignin을 제거하기가 어렵고, hemicellulose 유래의 wood sugar와 같은 pentose를 효율적으로 에탄올로 변환시킬 수 있는 미생물의 탐색 및 육종기술이 미비하여 상용화가 어렵다. 또한 상업적으로 적용할 수 있는 생산 경제성도 극복해야 할 문제이다. 다른 대안으로 탄수화물이 풍부한 해조류 계와 산업 폐기물을 재활용하여 바이오 에탄올을 생산하는 연구도 진행되고 있다[25,26]. 그 밖에도 비료로 사용하는 짚이나[27], 상하거나 상품성이 없어진 바나나를 사용한 연구도 보고되었다[28]. 바나나는 대부분 탄수화물로 이루어져 있고 소량의 섬유소를 포함하고 있기 때문에 이 탄수화물을 사용하여 고온에서 당화를 시킨 후 효모를 투입하여 에탄올을 생산할 수 있다[28].

본 연구에서 사용한 WFBF는 많은 장점을 가지고 있다. 맥주 발효 공정을 4내지 7세대까지 거친 폐 효모는 맥주의 발효 균주로써는 적합하지 않지만 바이오 에탄올 생산을 위한 균주로써는 우수한 성능을 지니고 있다[12]. WFBF를 이용하여 바이오 에탄올을 생산하면 균주 비용을 줄일 수 있고 공정과정을 단순화시킬 수 있다. 맥주 발효 공정에서는 맥주 보리를 발아시켜 맥아를 제조하는데 그 과정에서 당화효소가 생산된다. 이 당화효소에 의해 전분이 발효성 당류로 분해되고 맥주 발효에 적합하게 되는 것이다. 따라서 WFBF 내에 당류나 효모를 첨가하여 바이오 에탄올을 제조할 경우, 기존의 에탄올 발효공정보다 간결하게 만들 수 있다.

WFBF에는 탄소원, 질소원, 보조 starch source, 효소와 효모 등[6] 다양한 기질이 존재한다. 따라서 바이오 에탄올을 생산할 때 효소, 효모, 미생물 혹은 탄수화물을 전혀 첨가하지 않아도 되기 때문에 상등액과 침전물을 생산 주 원료로 사용할 수 있으며[6,18] 가격 경쟁력 면에서도 효과를 볼 수 있다.

WFBF를 이용하여 바이오 에탄올을 생산하는 과정에는 당화와 발효과정이 포함 되는데 당화의 최적 온도는 60~70°C이며 발효의 최적 온도는 20~30°C로 두 과정 사이의 온도차가 크다. 그래서 이전 연구에서는 온도를 25°C에서 70°C로 서서히 올려 에탄올 발효 공정이 효과적으로 일어나도록 하였고 또한 추가적인 효소나 효모의 투입 없이 WFBF 자체의 바이오 에탄올 생산 가능성을 확인했다[6].

본 연구에서는 기존의 연구와 달리 정해진 온도에서의 당화 및 발효능을 확인하고 WFBF에 glucose와 효모를 추가 투입하여 동시당화발효(simultaneous saccharification and fermentation process, SSF)를 이용하여 에탄올을 생산하고 10% glucose를 포함한 특정 배지에 효모를 첨가하는 등 여러 조건에서의 SSF를 이용한 에탄올 생산의 기초 특성을 조사하고자 하였다.

2. 실험

2-1. 재료

본 연구에서 사용한 WFBF는 대한민국 대구 아리아나 호텔 하우

스 맥주전문점으로부터 공수하였다. WFBF 원액은 밀봉하여 20°C에 보관하였고 실험에는 모두 원액을 사용하였다. 발효공정에 사용된 yeast cell은 발효공정에서 가장 흔하게 쓰이고 있는 *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*, ATCC 24858)와 thermotolerant인 *Kluyveromyces fragilis* (*K. fragilis*, KCTC 7156)이다. 두 종류의 yeast cell을 YM배지에서 활성화시켜 접종하였다. YM배지의 조성은 3 g/L yeast extract, 3 g/L malt extract, 5 g/L peptone, 10 g/L dextrose이다. WFBF의 에탄올 발효능 측정을 위한 배지로는 CDM을 사용하였으며 배지의 조성은 100 g/L glucose, 8.5 g/L yeast extract, 1.3 g/L NH₄Cl, 0.12 g/L MgSO₄·H₂O, 0.06g/L CaCl₂이다.

2-2. 당화능 측정

가루 형태의 starch (BD Difco™ 217820)를 증류수에 녹여 5% starch 용액을 만들었다. WFBF와 starch 용액을 1:1 비율(각 25 mL)로 혼합하여 50 mL vial에 넣고 온도별로 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 배양 120분 후에는 샘플 일부(25 mL)를 채취하여 starch 용액 25 mL를 추가 투입하여 당화효소의 재사용 능력을 확인하기 위해 재 실험하였다.

2-3. 발효능 측정

발효 공정은 CDM, WFBF와 2종의 효모를 이용하였다. WFBF과 CDM을 1:1 비율(각 25 mL)로 혼합하고 WFBF 50 mL에 CDM에서 preculture한 효모 5 mL 접종하여 온도 별로 shaking incubator에서 150 rpm으로 진탕 배양하였다.

2-4. 동시당화발효능 측정

50 mL vial을 이용하여 5% starch 용액, WFBF와 CDM을 1:1:1 비율(각 15 mL)로 혼합하여 온도별로 shaking incubator에서 150 rpm으로 진탕 배양하였다. Glucose를 제거한 CDM을 이용하여 같은 방법으로 배양하였다. 또한 마찬가지로 5% starch 용액, WFBF와 CDM에서 preculture한 2종의 효모를 각각 1:1:1 비율(각 15 mL)로 혼합하여 온도 별로 shaking incubator에서 150 rpm으로 진탕 배양하였다.

2-5. 분석 방법

2-5-1. Glucose 농도 측정

Glucose 농도는 glucose 측정기(refractometer ATGO, Japan)와 glucose kit (GAGO-20 sigma aldrich, USA)을 사용하여 측정하였다. WFBF를 사용한 실험을 진행하였을 때 glucose 측정기를 사용하였다. Glucose kit를 사용했을 때 glucose 뿐 아니라 WFBF 속에 들어있는 다른 종류의 당이나 여러 물질들과 반응하여 농도가 정확하게 측정이 되지 않았다.

2-5-2. 에탄올 농도 측정

에탄올 농도는 sample 속에 포함된 당을 제거하기 위하여 saccharide removal kit (Catalog#: DSRK-500, saccharide removal kit, bioassay systems, Hayward, CA, USA)를 이용하였다. 당을 제거한 샘플은 ethanol assay kit (Catalog#: DIET-500, quantichrome ethanol assay kit, bioassay systems, Hayward, CA, USA)로 반응시킨 후 UV-spectrometer를 사용하여 파장 580 nm에서 흡광도를 측정하여 에탄올 농도를 계산하였다.

2-5-3. CFU 측정

배양 후 살아있는 yeast cell의 population을 확인하기 위해 colony forming unit (CFU)를 측정하였다. CFU 측정을 위해 효모의 분리용 배지로 널리 쓰이는 YM고형배지를 사용하였다. YM고형배지는 YM배지에 agar를 첨가하여 만들었다. 샘플을 채취하여 0.85% saline 용액을 이용하여 단계적으로 희석한 후 0.1 mL를 YM고형배지에 도말하여 colony가 형성될 때까지 30 °C에서 2일간 배양하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. WFBF의 당화능

당화능 측정결과를 Fig. 1에 나타내었다. 50~70 °C에서 당화가 활발하게 일어났고 180분 이후 starch 용액을 재투입했을 때(화살표로 나타낸 지점)는 glucose의 농도가 감소했다. 당화 최적온도 60, 70 °C에서도 glucose의 농도가 7.4%에서 7.6%, 7.5%에서 7.6%로 약 0.1~0.2% 밖에 증가하지 않은 것으로 보아 생산된 glucose의 에탄올 전환 또는 당화효소의 활성도가 떨어졌음을 알 수 있다.

3-2. CDM을 이용한 에탄올 발효능

CDM을 이용한 에탄올 발효능 측정 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 발효의 최적 온도인 30 °C에서 에탄올의 농도가 3.2%에서 4.5%로 1.3% 증가하였고, 40 °C에서는 3.2%에서 3.8%로 0.6% 증가하였다. 30 °C와 비교하였을 때 비교적 적은 양의 에탄올이 생산되었지만 40 °C에서도 발효가 일어난다는 것을 확인했다. 50 °C와 60 °C에서는 3.6%와 3.3%로 각각 0.4%, 0.1% 증가하였지만 발효과정은 거의 일어나지 않았다. 에탄올 농도가 증가한 것은 WFBF 속의 효모가 CDM에 첨가된 glucose를 소모하여 에탄올을 생산하기 때문이다.

CDM을 이용한 에탄올의 발효능을 실험했을 때 CFU 측정값을 Fig. 3에 나타내었다. 30, 40 °C에서는 CFU가 증가하거나 거의 변화가 없는 반면 50, 60 °C에서는 CFU가 감소했다. 이는 50, 60 °C는 cell이 살기에는 높은 온도이기 때문에 시간이 지날수록 살아있는 세포 수가 줄어들기 때문이다.

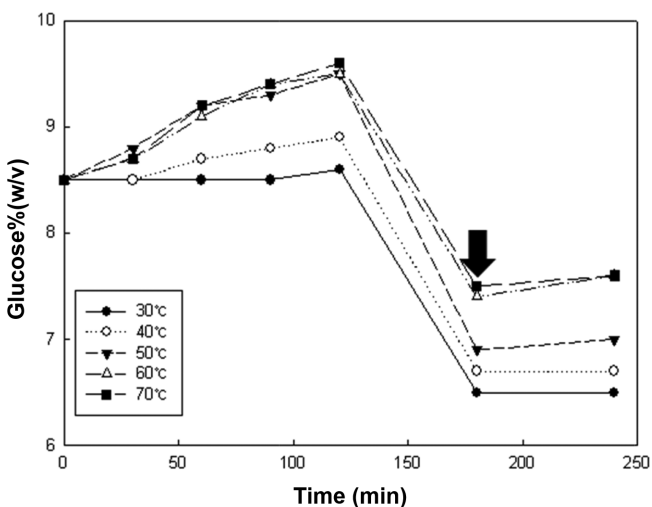


Fig. 1. Variation of glucose at different temperatures from a mixture of starch and WFBF solution at the same ratio. 25 mL starch solution was added after 180 minutes at indicated with arrow.

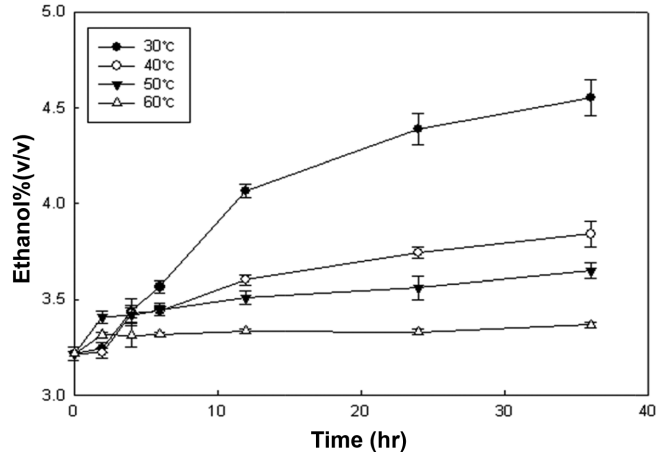


Fig. 2. Production of ethanol at different temperatures from a mixture of WFBF and CDM at a ratio of 1:1.

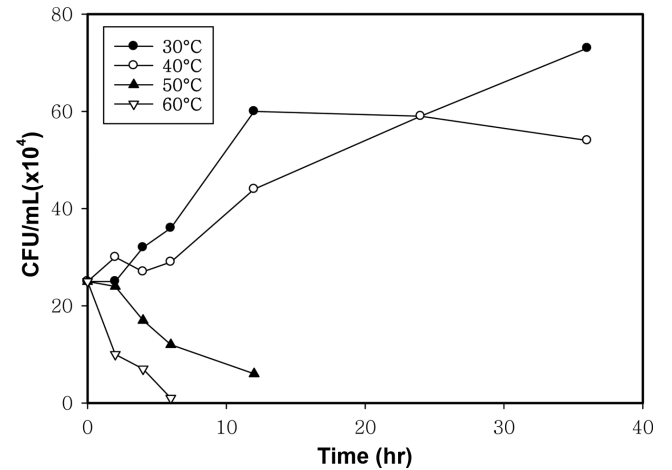


Fig. 3. Measurement of CFU of yeast cell from a mixture of WFBF and CDM solution at a ratio of 1:1. The CFU was measured at various time intervals at different temperature ranges.

3-3. Yeast cell을 이용한 에탄올 발효능

두 종류의 yeast cell을 접종하였을 때 에탄올 발효능 실험결과를 Fig. 4에 나타내었다. *S.cerevisiae*를 접종하였을 때 30 °C에서는 에탄올의 농도가 3.3%에서 4.7%로 1.4% 증가하였고 40 °C에서는 3.3%에서 4.5%로 1.2% 증가하였다. 또한 50 °C와 60 °C에서는 3.3%에서 3.6%, 3.57%로 각각 0.3%, 0.27% 증가하였다. *K.fragilis*를 접종하였을 때 30 °C에서는 에탄올의 농도가 3.3%에서 4.5%로 1.2% 증가하였으며 40 °C에서는 3.3%에서 4.6%로 1.3% 증가하였다. 또한 50 °C와 60 °C에서는 3.3%에서 3.7%, 3.5%로 각각 0.4%, 0.2% 증가하였다.

두 종류의 yeast cell을 접종한 두 실험 모두 30, 40 °C에서 에탄올이 생산되고 50, 60 °C에서는 에탄올이 생산되지 않았으며 생산된 에탄올 농도가 가장 높은 온도는 *S.cerevisiae*의 경우 30 °C, *K.fragilis*의 경우 40 °C 이었다. 전반적인 에탄올 농도는 *K.fragilis*를 접종했을 때가 *S.cerevisiae*를 접종했을 때보다 높았다. 이러한 결과로 thermotolerant yeast cell이 WFBF으로부터의 에탄올 생산에 효과적이라고 볼 수 있다.

두 종류의 yeast cell을 접종하여 에탄올 발효능을 실험했을 때의 CFU 측정값을 Fig. 5에 나타내었다. 30, 40 °C에서는 CFU가 증가하

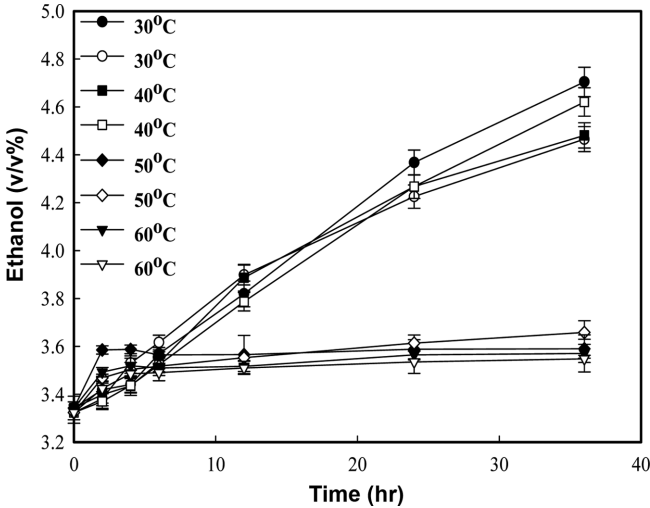


Fig. 4. Comparative analysis of bioethanol production from WBFB at various temperatures with *S.cerevisiae* (black symbols) and *K.fragilis* (white symbols).

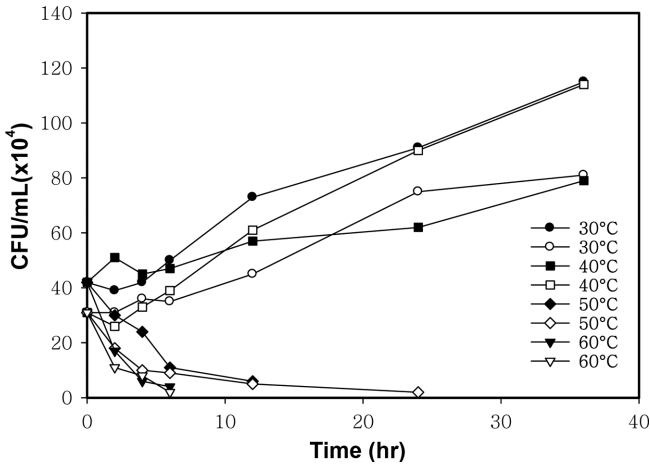


Fig. 5. Determination of CFU of yeast cell in WBFB inoculated with *S.cerevisiae* (black symbols), *K.fragilis* (white symbols) and cultured at various temperatures for different time intervals.

거나 거의 변화가 없는 반면 50, 60 °C에서는 CFU의 수가 감소한다.

WBFB에 yeast cell을 투입하였을 때는 control system에 비해 많은 양의 에탄올이 생산되지 않았다. WBFB 속에는 에탄올 생산에 유용한 yeast cell이 포함되어 있어 미생물의 추가 접종은 필요하지 않지만[6] 오래되거나 활성도가 감소한 cell들은 높은 온도에서 생존할 가능성이 떨어져서 에탄올 생산이 어려울 수 있다.

전반적인 결과를 보면 신선한 media를 사용하면 높은 온도 범위에서 발효가 효과적으로 일어났다. 하지만 WBFB 원액을 사용한 일반적인 발효 과정에서 추가적인 효소나 미생물의 투입 없이도 상당한 양의 에탄올을 생산할 수 있었다[6].

3-4. WBFB의 동시당화발효능

Starch 용액, WBFB, CDM을 배합한 혼합 용액의 동시당화발효능 실험 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 30 °C에서 에탄올 농도가 초기 3.2%에서 4.8%로 1.6% 증가하였고 glucose 농도는 7.3%에서 5.3%로 2.0% 감소하였다. 40 °C에서는 에탄올 농도가 3.2%에서 3.7%로

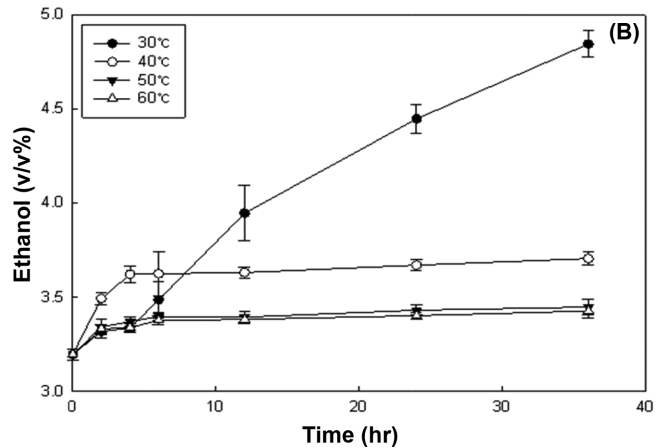
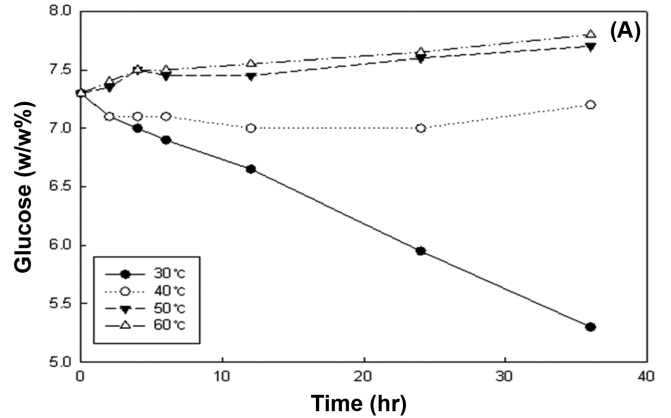


Fig. 6. Variation of glucose (A) and production of ethanol (B) at different temperatures from a mixture of starch solution, WBFB and CDM at a ratio of 1:1:1.

0.5% 증가하였고 glucose 농도는 감소하다가 4시간 배양 후부터 다시 증가하는 양상을 보이고 있으므로 SSF가 이루어졌다고 볼 수 있다. 그리고 50 °C와 60 °C에서는 에탄올이 거의 생산되지 않았고 glucose가 7.3%에서 7.55%, 7.8%로 각각 0.25%, 0.5% 생산되었다. Starch 용액, WBFB, glucose를 제거한 CDM을 배합한 혼합 용액의 동시당화발효능 실험 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 30 °C에서 에탄올 농도는 초기 3.2%에서 3.9%로 0.7% 증가했고, glucose 농도는 4.0%에서 3.63%로 0.37% 감소했다. 40 °C에서는 에탄올 농도가 3.2%에서 3.5%까지 증가하였다가 2시간 배양 후부터는 거의 생산되지 않고 유지되었다. Glucose 농도 역시 4.1%까지 감소했다가 6시간 배양 후에 증가했다. 50 °C와 60 °C에서는 glucose가 4.0%에서 각각 4.7%, 4.75%로 0.7%, 0.75% 생산되어 다른 온도에 비해 당화과정이 활발하게 일어났다.

Glucose가 포함된 배지는 glucose가 없는 배지와 비교했을 때 전체 공정에 상당히 다른 영향을 줄 수 있다. 당화는 두 경우 모두 60 °C에서 가장 잘 일어났지만, Fig. 6(B)와 Fig. 7(B)를 비교해보면 glucose를 제외한 CDM에서는 에탄올 생산량이 상당히 낮다. 이로써 처음부터 배지에 glucose가 포함되어 있으면 WBFB를 사용한 SSF가 더 효과적으로 일어남을 알 수 있다.

동시당화발효능 실험의 CFU 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 30, 40 °C에서는 CFU가 증가하거나 거의 일정한 반면 50, 60 °C는 시간이 지날수록 CFU가 감소했다. 또 발효는 30 °C에서 가장 활발하게

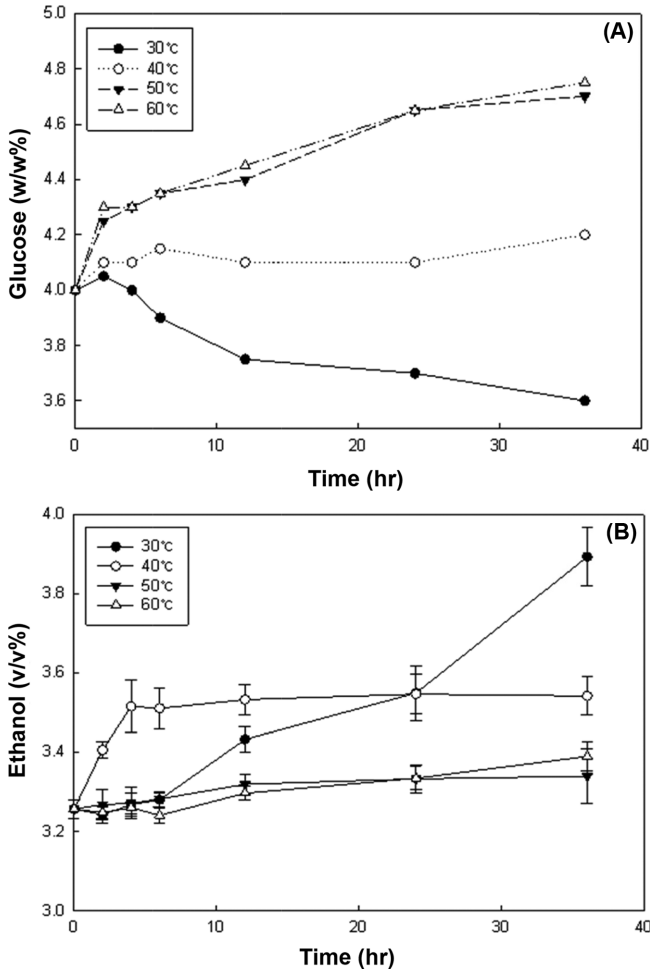


Fig. 7. Variation of glucose (A) and production of ethanol (B) at different temperatures from a mixture of starch solution, WBFB and CDM (without glucose) at a ratio of 1:1:1.

일어나며 당화는 50 °C와 60 °C에서 활발히 일어났다. Starch 용액, WBFB 그리고 *S.cerevisiae*을 배합한 혼합 용액의 동시당화발효능 실험결과를 Fig. 9에 나타내었다. 30 °C에서 에탄올 농도는 3.3%에서 4.8%로 1.5% 증가했고, glucose 농도는 5.2%에서 4.0%로 1.2% 감소했다. 40 °C에서도 역시 에탄올 농도는 4.0%로 0.7% 증가하였고 glucose 농도도 5.1%로 0.1% 감소하였다. 50 °C와 60 °C에서는 에탄올 농도가 거의 증가하지 않았으며 glucose 농도는 5.85%, 6.1%로 각각 0.65%, 1%만큼 증가했다. 또한 30 °C와 40 °C에서 glucose 농도가 감소하면서 에탄올 농도가 증가하였지만 SSF가 크게 활발하지 않은 것을 알 수 있다. Starch 용액, WBFB 그리고 *K.fragilis*을 배합한 혼합 용액의 동시당화발효능 실험결과를 Fig. 10에 나타낸 것이다. 30 °C에서 에탄올 농도는 초기 3.3%에서 4.4%로 1.1% 증가하였고 glucose 농도는 4.6%에서 3.9%로 0.7% 감소하였다. 40 °C에서도 역시 에탄올 농도가 4.1%로 0.8% 증가하였고 glucose 농도 역시 4.3%로 0.3% 감소하였다. 50 °C와 60 °C에서는 에탄올 농도가 3.6%, 3.5%로 0.3%, 0.2% 증가하여 큰 변화가 없었으며 glucose 농도는 5.0%에서 5.15%로 0.4%에서 0.55% 증가했다. 두 가지 yeast cell을 접종하였을 때 CFU 결과를 Fig. 11에 나타내었다. 30 °C에서 두 yeast cell의 경우 모두 CFU가 가장 많이 증가했고, 50, 60 °C에서는 감소했다.

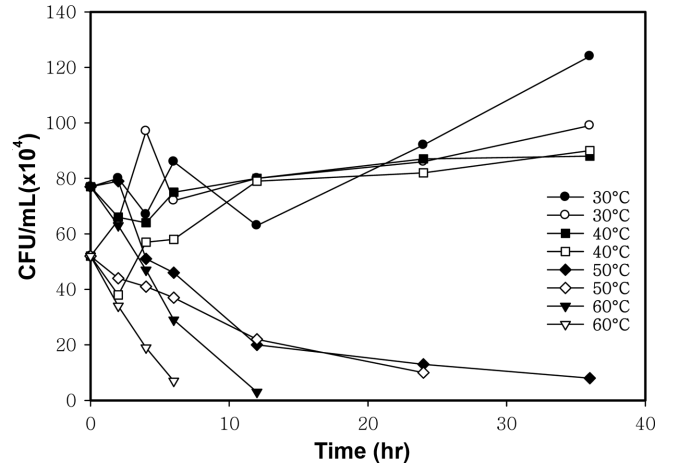


Fig. 8. Measurement of CFU of yeast cell from a mixture starch solution, WBFB and CDM (with glucose(black symbols) and without glucose (white symbols)) at a ratio of 1:1:1. The CFU was measured at various time intervals at different temperature ranges.

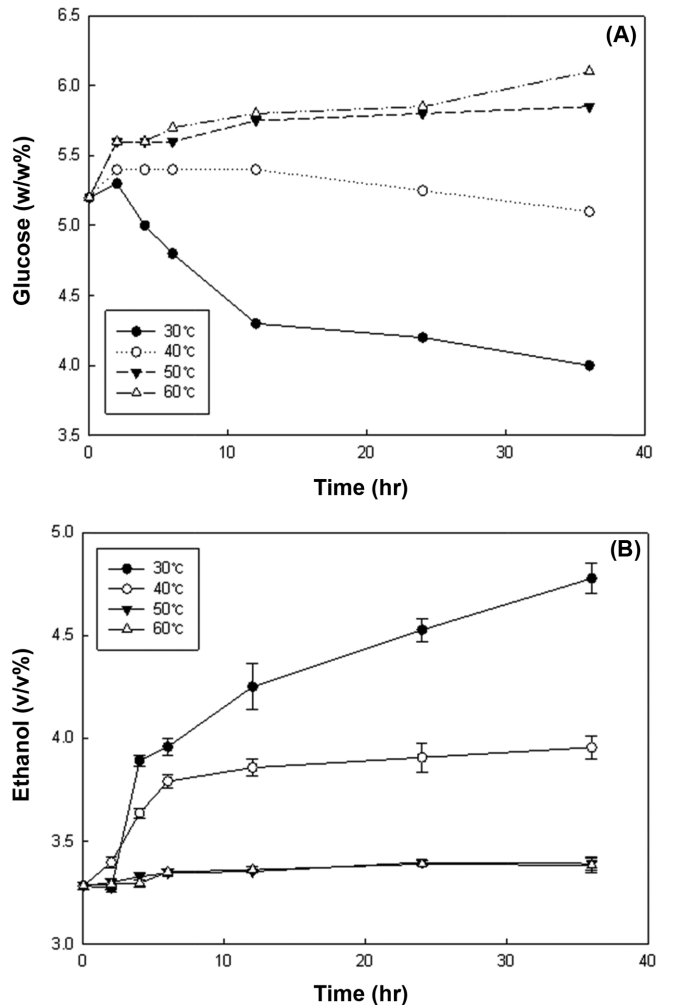


Fig. 9. Variation of glucose (A) and production of ethanol (B) with *S.cerevisiae* from a mixture of starch solution, WBFB and CDM. The production was evaluated at different temperatures.

*S.cerevisiae*와 *K.fragilis*의 바이오 에탄올 생산 능력은 상대적으로 차이가 있다. WBFB와 starch solution을 혼합한 배지에 두 종의 yeast

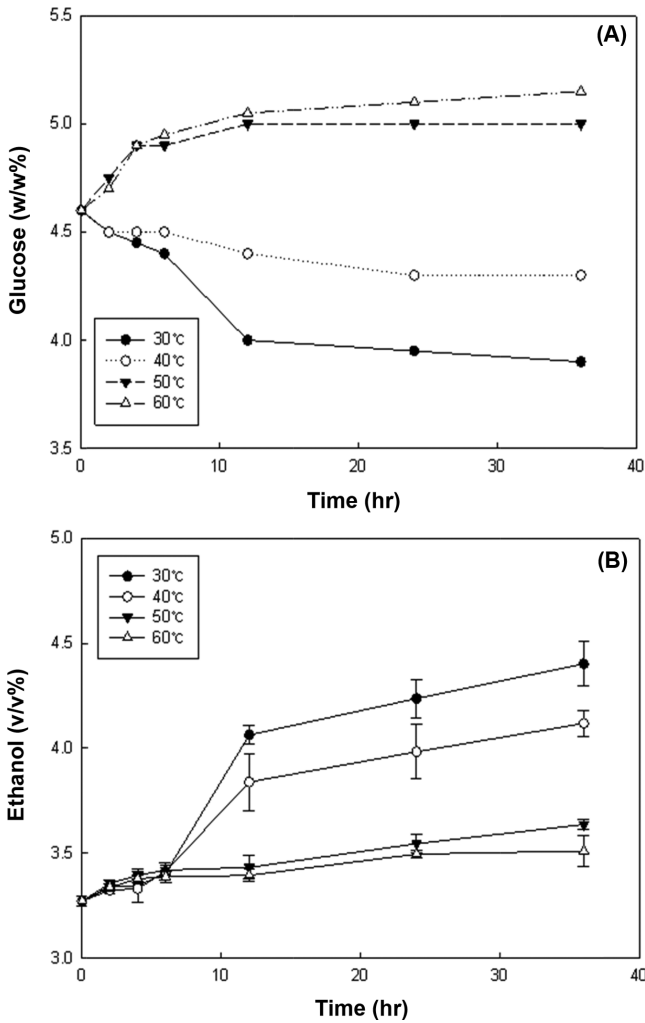


Fig. 10. Variation of glucose (A) and production of ethanol (B) with *K. fragilis* from a mixture of starch solution, WBFB and CDM. The production was evaluated at different temperatures.

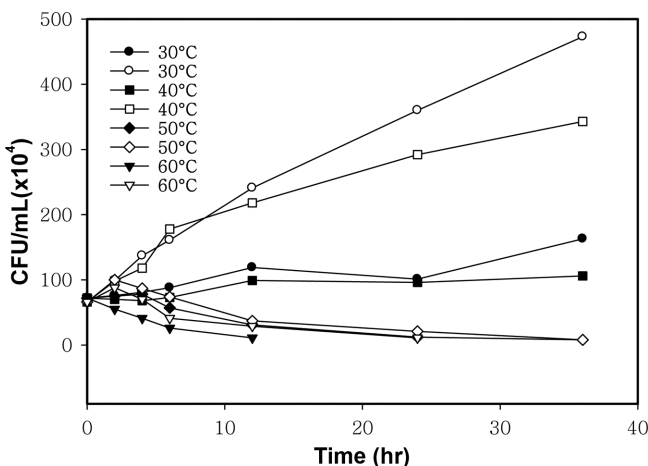


Fig. 11. Measurement of CFU of yeast cells with *S. cerevisiae* (black symbols), *K. fragilis* (white symbols) from a mixture of starch solution, WBFB and CDM at a ratio of 1:1:1. The CFU was measured at various time intervals at different ranges.

를 추가하였을 때 당화능과 발효능은 Fig. 9와 Fig. 10을 통해 비교할 수 있다. 당화는 WBFB에 존재하는 당화효소에 의해 진행되고 두

경우 모두 60 °C에서 당화능이 가장 높다. Yeast cell은 당화를 통해서 생산된 glucose를 이용하여 발효를 하는데, Fig. 9(B)와 Fig. 10(B)을 통해 *S. cerevisiae*와 *K. fragilis*를 접종했을 때의 에탄올 생산능을 알 수 있다. 두 실험 모두 30, 40 °C 처럼 낮은 온도에서는 에탄올이 생산되었지만 50 °C와 60 °C에서는 에탄올이 거의 생산되지 않았다. 30 °C에서는 *S. cerevisiae*을 접종하였을 때 더 많은 에탄올이 생산되었고 40 °C에서는 *K. fragilis*을 접종했을 때 더 많은 에탄올이 생산되었다. 이전에 언급했듯이 온도에서 *S. cerevisiae*와 *K. fragilis*와의 차이점은 이러한 결과에 주요한 요인이다. 전반적인 에탄올 생산량은 *K. fragilis*가 *S. cerevisiae*보다 더 높으며 이러한 thermotolerant yeast cell이 바이오 에탄올 생산에 유용할 것이다.

4. 결 론

본 연구에서는 WBFB에 yeast cell과 glucose를 추가 투입하여 에탄올 생산을 더 활발하게 하고 정해진 온도에서의 동시당화발효의 가능성을 확인하는 실험을 하였다. Yeast cell과 glucose를 추가적으로 투입하였을 때 에탄올 생산량은 증가했지만 SSF는 일어나지 않았다.

당화능과 당화효소의 활성도 측정 실험에서는 50, 60 °C에서 당화 과정이 가장 활발하게 일어났고, 2가지 효모를 이용한 발효 측정 실험에서는 *S. cerevisiae*를 접종한 경우 30 °C에서, *K. fragilis*를 접종한 경우에는 40 °C에서 에탄올이 가장 많이 생산되었다. 오래되거나 활성도가 떨어진 WBFB에 yeast cell을 추가함으로써 에탄올 생산량을 증가시킬 수 있다.

동시당화발효 측정 실험에서는 glucose가 포함된 혼합 용액을 사용했을 때는 에탄올이 많이 생산되었지만 glucose를 제외한 혼합 용액에서는 에탄올 생산량이 상대적으로 적었다. 그리고 WBFB에서 보다 CDM을 혼합했을 때 에탄올 생산량이 더 많았다. CDM에는 yeast의 성장이나 당화효소의 활성도를 향상시키는 최적의 영양소들이 들어있기 때문에 상대적으로 더 높은 에탄올 생산량을 기대할 수 있다. Glucose가 포함된 CDM을 사용하였을 때 glucose가 소모됨에 따라 에탄올 생산량이 증가했지만 정해진 온도에서의 동시당화발효를 기대하는 것은 어려웠다.

본 연구는 WBFB 자체만으로도 훌륭한 바이오 에탄올의 원료가 될 수 있지만 효모와 당을 추가 투입함으로써 에탄올 생산을 더 활발하게 진행시킬 수 있다는 것을 보여준다. 또한 thermotolerant인 *K. fragilis*가 에탄올 발효에 아주 유용하고 효율적인 yeast cell임을 확인했다.

감 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구 사업입니다(No. 2011-0016965).

References

1. Mei, X., Liu, R., Shen, F. and Wu, H., "Optimization of Fermentation Conditions for the Production of Ethanol from Stalk Juice of Sweet Sorghum by Immobilized Yeast Using Response Surface Methodology," *Energy Fuels*, **23**, 487-491(2009).
2. Prasad, S., Singh, A., Jain, N. and Joshi, H. C., "Ethanol Produc-

- tion from Sweet Sorghum Syrup for Utilization as Automotive Fuel in India," *Energy Fuels*, **21**, 2415-2420(2007).
3. Semelsberger, T. A., Borup, R. L. and Greene, H. L., "Dimethyl Ether (DME) as An Alternative Fuel," *J. Power Sources*, **156**, 497-511(2006).
 4. Song, H. S. and Ramkrishna, D., "Issues with Increasing Bioethanol Productivity: A Model Directed Study," *Korean J. Chem. Eng.*, **27**(2), 576-586(2010).
 5. Ha, J. H., Gang, M. K., Khan, T. and Park, J. K., "Evaluation of Sediments of the Waste from Beer Fermentation Broth for Bioethanol Production," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**(9), 1224-1231(2012).
 6. Ha, J. H., Shah, N., Ul-Islam, M. and Park, J. K., "Potential of the Waste from Beer Fermentation Broth for Bio-ethanol Production Without Any Additional Enzyme, Microbial Cells and Carbohydrates," *Enzyme Microb. Technol.*, **49**, 298-304(2011).
 7. Han, M., Kim, Y., Kim, Y., Chung, B. and Choi, G. W., "Bioethanol Production from Optimized Pretreatment of Cassava Stem," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**(1), 119-25(2011).
 8. Akpan, U. G., Alhakim, A. A. and Ijah, U. J. J., "Production of Ethanol Fuel from Organic and Food Wastes," *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, **7**, 1-11(2008).
 9. Asrar, G. R., America's farms: Growing food, fiber, fuel - and more, *Agricultural Research*, **55**, 2(2007).
 10. Ha, J. H., Shehzad, O., Khan, S., Lee, S. and Park, J. K., "Production of Bacterial Cellulose by a Static Cultivation Using the Waste from Beer Culture Broth," *Korean J. Chem. Eng.*, **25**(4), 812-815(2008).
 11. Kim, S. H., Yoo, Y. D., Kang, K. H. and Park, J. W., "Simulation Study of Bioethanol Production Process from the By-Product of Beer Fermentation," *Journal of Energy & Climate Change*, **4**, 20-27(2009).
 12. Khan, T., Hyun, S. H. and Park, J. K., "Production of Glucuronan Oligosaccharides Using the Waste of Beer Fermentation Broth as a Basal Medium," *Enzyme Microb. Technol.*, **42**, 89-92(2007).
 13. Khattak, W. A., Kang, M. K., Ul-Islam, M. and Park, J. K., "Partial Purification of Saccharifying and Cell Wall Hydrolyzing Enzymes from Malt in Waste from Beer Fermentation Broth," *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **36**, 737-747(2013).
 14. Khattak, W. A., Khan, T., Ha, J. H., Ul-Islam, M., Kang, M. K. and Park, J. K., "Enhanced Production of Bioethanol from Waste of Beer Fermentationbroth At High Temperature Through Consecutive Batch Strategy by Simultaneous Saccharification and Fermentation," *Enzyme Microb. Technol.*, **53**, 322-330(2013).
 15. Balata, M., Balata, H. and Cahide, O., "Progress in Bioethanol Processing," *Prog. Energy Combust. Sci.*, **34**, 551-73(2008).
 16. Baras, J., Gae, S. and Pejin, D., *Chem. Ind.*, **56**, 89-105(2002).
 17. HID Global Co., Optimizing Efficiency, Economy, and Traceability in Waste Management, Technology Basics White Paper(2009).
 18. Kim, S. D. and Dale, B. E., "Global Potential Bioethanol Production from Wasted Crops and Crop Residues," *Biomass Bioenerg.*, **26**, 361-375(2004).
 19. Chio, G. W., Moon, S. K., Kang, H. W., Min, J. H., Chung, B. W. J. and Choi, G. W., "Simultaneous Saccharification and Fermentation of Sludge-containing Cassava Mash for Batch and Repeated Batch Production of Bioethanol by *Saccharomyces Cerevisiae* CHFY0321," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **84**, 547-553(2009).
 20. Hammond, J. B., Egg, R., Diggins, D. and Coble, C. G., "Alcohol from Bananas," *Bioresour. Technol.*, **56**, 125-130(1996).
 21. Khattak, M., Ul-Islam, Park, J. K., "Prospects of Reusable Endogenous Hydrolyzing Enzymes in Bioethanol Production by Simultaneous Saccharification and Fermentation," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**(11), 1467-1682(2012).
 22. Kim, S. H., Yu, Y.D., Kang, K. H. and Park, J. W., "Simulation Study of Bioethanol Production Process from the By-product of Beer Fermentation," *Journal of Energy & Climate Change*, **4**(1), 20-27(2009).
 23. Na, J. B. and Kim, J. S., "The Optimum Condition of SSF to Ethanol Production from Starch Biomass," *Korean Chem. Eng. Res. (HWAHAK KONGHAK)*, **46**, 858-862(2008).