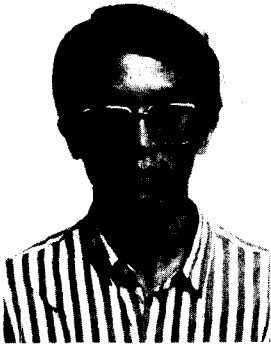


# 바이오매스로 부터 燃料用 에탄올 生産技術 開發



朴 淳 哲

<韓國에너지技術研究所 責任研究員>

## ■ 目 次 ■

1. 서 론
2. 바이오매스로부터 에탄올 生産工程과 經濟性
3. 國內外 기술개발 現況과 實驗結果의 考察
4. 앞으로의 전망

## 1. 서 론

최근 석유, 석탄, 천연가스 등 화석에너지 자원의 有限性和 화석연료의 다량사용에 따른 탄산가스의 漸增에 의한 地球溫暖化가 汎地球的인 환경문제가 되어 있으며, 따라서 그린라운드를 통한 화석연료 사용규제의 국제적인 움직임이 일고 있다. 그런데 이와같은 危機的 움직임 가운데서도 우리나라를 비롯한 전세계 대부분의 나라들이 輸送用 燃料의 대부분을 中東을 비롯한 OPEC국가들이 75%의 자원을 보유하고 있는 석유에 依存하고 있다. 資源偏在, 枯渴의 문제를 제쳐 놓더라도 오늘날 우리나라에서 볼 수 있는 바와 같은 휘발유, 경유 등을 연료로 하는 乘用, 화물자동차의 폭발적 증가는 대도시 교통문제는 물론이고 스모그, 일산화탄소, 산화질소 등에 의한 대기오염의 深化를 불러 일으키고 있다. 따라서 우선 휘발유의 소비절감과 수송용 대체연료 혹은 대체 수송수단의 개발이 중요한 懸案으로 떠오르고 있는 가운데 알콜자동차(에탄올, 메탄올), 전기자동차, CNG(Compressed Natural Gas: 압축천연가스) 자동차 등이 유력한 代案으로 개발되고 있다. 이 중에서 에탄올을 사용하는 알콜자동차는 다음의 세가지 측면에서 독특한 장점을 가지고 있다.

첫째, 에탄올을 기존자동차의 메카니즘을 거의 변화시키지않고 바로 휘발유를 대체할 수 있다는 측면이다. 미국(19%가소홀)이나 브라질(22%가소홀)의 휘발유, 에탄올 혼합연료인 가소홀(Gasohol)은 10여년의 實使用에서 아무런 문제를 일으키지 않았으며, 브라질에서 사용되는 Neat Ethanol(에탄올 95%, 물 5%의 水化에탄올)도 연료의 供給系統, 點火時期등 미미한 엔진조정, 材料交替로 성공적으로 자동차용 內燃機關에 사용되는 것으로부터 미루어 짐작할 수 있다.

둘째, 휘발유 대신에 에탄올을 사용하면 아황산

가스는 물론이고 未燃炭化水素, 일산화탄소 같은 대기오염물질의 배출을 현저히 줄일 수 있다는 점이다. 이와같은 사실은 각국의 실험적 연구나 플릿 테스트(Fleet Test)의 결과로 밝혀졌을 뿐아니라 브라질의 상파울로시 당국이나 미국 덴버시등의 환경운동 시민단체들이 알콜이나 가소홀 사용 후 大氣環境 改善效果를 實地 확인하고 이의 사용을 적극 勸奨 啓蒙하는 것으로 또한 알 수 있다.

셋째, 再生可能한 천연자원인 곡물이나 바이오매스로 부터 생산되는 에탄올은 원료의 생산과정에서 이산화탄소를 消耗하기 때문에 범지구적 온난화의 주범인 이산화탄소의 증가에 영향을 덜 미치게 된다는 점이다. 이는 비료, 수송수단, 작업과정에서 화석에너지에 다량사용하는 오늘날의 農林業의 형태상 이산화탄소의 증가를 전혀 誘發치 않는다고 斷言하기는 힘들지만 작물이나 바이오매스의 생산서부터 에탄올 생산에 이르기까지 화석연료의 사용을 抑制하면 이산화탄소의 증가를 極小化 시킬 수 있다.

따라서, 자동차에 휘발유를 대신하여 바이오알콜을 쓰게되면 수송연료공급의 多變化, 도시의 大氣汚染防止 및 이산화탄소 증가를 감소등 複合의 효과를 얻을 수 있다. 그러나, 이와같은 자동차 연료대체가 합리성을 갖기 위하여는 원료의 安定的 供給을 前提로 하는 경제성의 確保가 先決 要件임은 두말할 나위가 없다.

따라서, 사탕수수와 옥수수를 대량생산할 수 있는 天慧의 조건을 갖춘 브라질과 미국은 1974년 석유파동 이후 前者는 사탕수수에서 연간 11.2백만 kl의 바이오에탄올을 미국은 옥수수에서 연간 3.8백만kl의 에탄올을 생산하여 자동차용 연료로 사용하고 있다. 그러나, 브라질, 미국의 예와 같이 澱粉質系나 糖質系의 원료로부터 연료용 에탄올을 생산하는 공정은 다음의 몇가지 문제점에 直面하고 있다.

첫째, 이들 원료는 食糧, 飼料 혹은 調味料 등으로도 소비되므로 시장이 안정하지 못하며, 비슷한 이유로 原料의 供給이 需要에 彈力的으로 대응하지 못하여 에탄올의 價格上昇이나 需要不安을 招來할 수 있다는 것이다. 둘째로는, 곡물이나 당분을 채취한 나머지 상당량의 木質系 副産物을 효율적으로 이용할 기술이 부족할 뿐 아니라 도리어 폐기물 문제를 유발하고 있는 것이다. 덧붙여, 이들 전분질계 및 당질계 원료의 현재 市場價格 自體가 상당히 높기 때문에 에탄올의 생산원가중 원료가 차지하는 비중이 너무커서 기술적 개선에 따른 原價切減의 餘地가 적으며 상대적으로 저유가 하에서는 政府의 補助나 消費者의 犠牲에 너무 크게 의존하는 경향이 있다.

따라서, 미국, 브라질등 이미 전분질계나 당분질계 에탄올을 연료로하는 나라들도 목질계 副産物(Lignocellulogic Biomass)을 有効利用하거나 에탄올 생산원료를 아예 목질계로 전환할 계획으로 바이오매스로 부터 에탄올 생산기술개발에 拍車를 가하고 있다. 본고에서는 과거의 목질계 바이오매스로부터 에탄올 생산의 역사와 현재의 기술개발현황 및 경제성을 살펴보고, 한국에너지기술연구소에서 수행되고 있는 목질계 에탄올 생산기술 개발의 현재까지의 연구결과를 記述하고 앞으로의 기술개발 방향을 展望하고자 한다.

## 2. 바이오매스로부터 에탄올 生産 工程과 經濟性

### 가. 바이오매스로부터 에탄올 생산공정

목질계 바이오매스로부터 에탄올을 생산하는 공정은 먼저 바이오매스의 주성분을 이루는 셀룰로스를 糖類로 加水分解하는 糖化工程, 생성된 당을 에탄올로 하는 醱酵工程, 발효액중 에탄올을 분리하는 精製工程으로 구분할 수 있다. 목재의 主成分

[50%(w/v)내외]을 이루는 셀룰로스를 당화하는 방법은 酸을 가하여 분해하는 방법과 解纖維酵素(Cellulase)에 의한 방법으로 크게 나눌 수 있는데, 산에 의한 방법은 <표 1>에서 보는바와 같이 兩次大戰중 미국, 독일, 스위스, 한국(일제하)等地에서 實用化된 바도 있다.<sup>1)</sup> 한편 戰爭物資로 생산되던 당시의 목재로부터 에탄올 생산은 급격히 衰退하게 되었는데 그 원인을 살펴 보면 값싼 原油의 登場과 이로부터 생산되는 合成에탄올, 糖蜜등의 원료로부터 생산되는 발효에탄올의 市場蠶食 때문이며 당시에는 家庭用 연료로도 목재(薪炭)를 사용하던 때이므로 목재자원도 枯渴되었다.

그러나, 최근에 와서는 化石연료 過多使用에 따른 環境問題의 擡頭와 효소당화, 발효 등 바이오테크놀로지의 발전에 힘입어 생물공정을 거쳐 목질계 바이오매스로부터 에탄올을 생산하는 공정이 활발하게 개발되고 있다. 셀룰로스를 효소당화하고 발효하여 에탄올을 생산하는 實質的 工程의 嚆矢는 미국 육군 Natick 연구소가 1979년 개발한 이른바

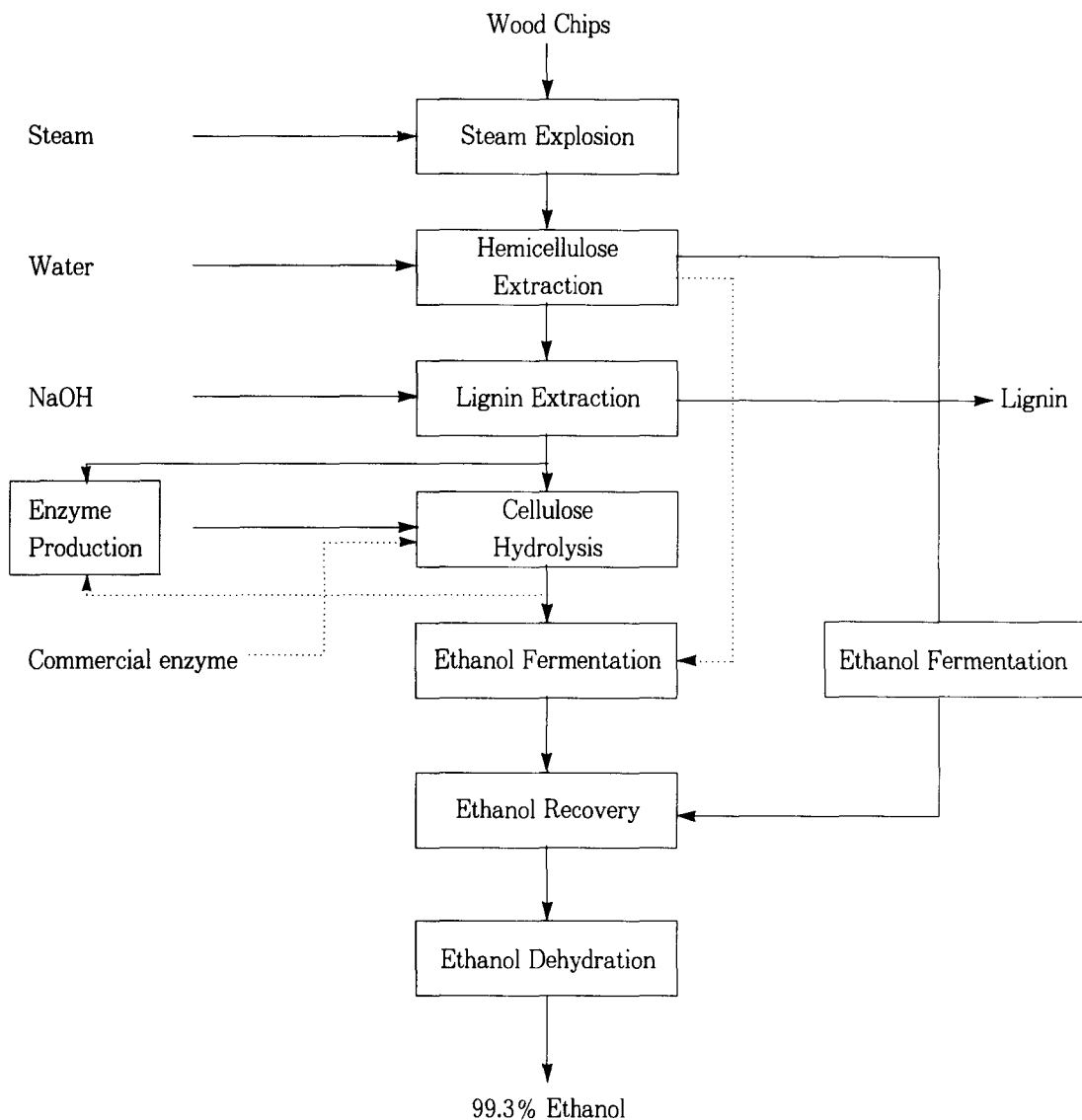
Natick process<sup>2)</sup>로 糖化酵素(Cellulase)의 性能改善으로 劃期的인 轉機를 이룩한 셈이다. 이 결과를 始發로 UC Berkely, Purdue 대학 등이 당화속도와 收率을 개선키 위한 노력을 기울인 결과 순수 셀룰로스 基質에서는 거의 理論值에 가까운 포도당 수율을 얻게 되었으며, Iotech사는 Hemicellulose나 Lignin을 효과적으로 回收할 수 있는 前處理 방법인 蒸氣爆碎法(Steam-Explosion Method)을 개발하였다. 이 밖에도 당화 阻害物質인 Lignin을 용매로 제거하는 溶媒抽出法(Organosolv Method), Lignin 분해 미생물을 도입한 전처리법(M.I.T. P-process)등이 제안되었다.

1970년 후반에서 최근에 이르는 기간동안의 이와 같은 기술개발의 결과로 생물공정에 의한 바이오매스로부터 에탄올 생산이 산당화에 의한 방법보다는 優秀하다는 것이고 바이오엔지니어링 측면에서도 각종 기술개발이 이루어져 최근에는 [그림 1]에 보인 바와 같이 概念의 공정이 導出되게 되었다.<sup>3)</sup>

<표 1> 산당화에 의한 에탄올 생산공정

공정명	공정형태	운전기간	공장위치	특징
American공정 (묵은 황산)	회분식	1차대전중	미국(남캐롤라이나, 루이지애나)	6wt% 당농도, 90 l EtOH/dry TON, 50% EtOH, 19-20kl/d
Scholler공정 (묵은 황산)	반연속식	1930-1940년대	독일(3개소) 스위스(1개소) 한국*(1개소) 이태리(1개소)	200 l EtOH/dry TON, 95% EtOH, 스위스 64 l/d
미국 Scholler 공정 (묵은 황산)	반연속식	1930-1940년대	미국(미시간, 위스콘신, 오레곤)	240kl EtOH/dry TON, Scholler 공정에 비해 생산성이 큼
Bergius공정 (발연 염산)	반연속식	1930-1940	독일	20kl/d 규모, 상업화 실패

\* 신의주



[그림 1] 목질계 에탄올 생산의 最新工程

#### 나. 목질계 에탄올 생산의 경제성

그러면 최신의 공정으로 목질계 바이오매스 자원으로부터 에탄올을 생산하면 생산원가는 어느 정도일까? 이는 개발 初期段階부터 많은 연구자들의 관심사항이었으나, 기술을 파일럿 플랜트에서 실증하는 단계인 최근에 이르러서야 信憑性 있는 자료

들이 제시되고 있다. 목질계 에탄올 생산을 위한 全體工程을 검토한 바 있는 선진 4개국(미국, 프랑스, 캐나다, 일본)의 경제성 분석결과를 요약하면 <표 2>와 같다<sup>3-6)</sup>. 이 중에서 미국은 糖化와 醱酵工程이 統合된 同時糖化醱酵工程(Simultaneous Saccharification and Fermentation)을 假定한 경

우로서 다른 評價보다 상당히 낮은 생산단가를 제시하고 있는데, SSF 공정은 응용연구 단계로서 확립된 기술은 아니고, 원료목 가격이 낮게 계상되고, 공장규모도 상당히 크게 잡혀 있어서 아무래도 신빙성이 떨어진다.<sup>4)</sup> 다른 나라들은 앞서 [그림 1]에서 제시한 최신공정에서 크게 벗어나지 않는 공정을 가정한 결과로 工場規模도 50,000~60,000 (kl/년) 수준을 현재의 기술수준으로 가장 妥當한 것으로 보고 있다(더 커질 경우 똑같은 공장을 여러개 건설해야할 필요가 있음).<sup>5)</sup>

따라서, 현재 목재로부터 목질계 에탄올의 l 당 생산단가는 \$ 0.6~0.8선으로 보는 것이 妥當하다 하겠다.

참고로 미국의 옥수수 에탄올 생산단가는 \$ 0.3~0.4/l 선이며, 브라질의 사탕수수 에탄올은 \$ 0.4/l 선에서 생산된다. 그런데 油價 \$ 20/bbl 안쪽인 오늘날 가솔린의 精油社 생산원가는 \$ 0.2/l

선인데다가 에탄올 1 l 당 연료로서의 가치는 가솔린 0.8 l 와 맞먹는다. 그러므로, \$ 20/bbl 선의 油價하에서는 l 당 에탄올 생산원가가 \$ 0.16 이하이어야 경제성을 갖을 수 있다는 결론이다. 그러나, 유가는 尙後 상승할 가능성이 많고 목질계 에탄올의 가격은 기술개발의 결과로 날이갈수록 下落할 것으로 생각되고 있다. <표 2>에서 보는 바와같이 이러한 바이오 에탄올 생산원가 절감은 당화, 발효의 수율을 높이며, 공정의 중요한 부산물인 리그닌, 未轉換 슬러지 등을 기술개발을 통하여 공정연료로 사용하고, 해섬효소(Cellulase) 생산단가를 낮추는 한편 人工造林등을 통하여 原料木 가격 및 품질을 높여서 이룩될 수 있을 것이다. 그러면, <표 2>에서와 같이 2,000年代 初에는 목질계 에탄올 생산단가가 \$ 0.3~0.4/l 선으로 낮아져 原油價 \$ 30/bbl線에서 휘발유와 競争이 가능할 展望이다.

<표 2> 목질계 에탄올 생산의 경제성

항 목	국가별	미 국(1989)	프랑스(1989)	캐나다(1991)	일 본(1990)
원료목				Aspen	White Birch
공장규모(kl/y)		180,000	65,000	49,000	6,600
시설투자규모(백만 \$, 억원)		147(1,100)	68(510)	80(600)	-
추정단가(\$/l)		0.34	0.65	0.84	1.19
(기 타) 원료목 가격(\$/ton)		42	45	60	
원료목 소요(ton/d)		1,920	700(추정)	500	
생산단가 개선(\$/l)				-0.55	
수율개선		-0.08	-0.16		
생산성개선		-0.03	-0.13		
전처리효율 향상		-0.01	-0.07		
원료목 가격		-0.08			
개 선 단 가		0.14	0.30	0.29	
(목표치)		(0.16)		(0.25)	(0.42)
참 고 문 헌		4	5	3	6

### 3. 國內外 기술개발 現況과 實驗結果의 考察

#### 가. 국내외 기술개발 현황

우리나라에서 에탄올을 輸送用 燃料로 쓴다는 목표하에 本格的인 연구개발이 시작된 것은 1988년 도부터 開始한 商工資源部의 1段階 代替에너지 기술개발사업 수행이후로서 澱粉質系, 木質系 原料의 당화, 발효 및 에탄올의 精製와 각종 菌株改善을 網羅한 부문에서 30여개의 研究課題가 수행되었다.<sup>7)</sup> 이러한 연구개발의 결과로 전분질계의 당화, 連續發酵를 통한 無水에탄올의 생산은 1kl/일 에탄올 생산규모의 파일럿 플랜트를 운전하는 水準에 이르렀으며 酒精의 생산원가절감을 목표로 기술개발이 계속되고 있다. 한편, 목질계로부터 에탄올 생산에 관련한 연구는 기술의 難易도가 높고 외국에서도 濫用化된 바 없으므로 당화율을 높이기 위한 전처리, 당화, 발효, 정제의 각 단위공정의 실험 실적 연구와 Cellulase효소를 分泌하는 균주 및 Xylose 발효균주 同定등 基礎的인 연구를 수행하여 應用研究를 위한 基盤을 다지게 되었다. 따라서 이와같은 기초연구의 결과를 相互連結하여 목질계 바이오매스로부터 에탄올을 생산하는 小型 파일럿 플랜트(에탄올 생산 200 l/일 규모)를 건설함으로써 관련 單位工程技術을 實證하고 단위공정은 물론 전체공정을 개선함으로써 목질계 에탄올 생산의 경제성을 높이하고자 기술개발을 수행하고 있다.<sup>8)</sup>

파일럿 규모의 목질계 에탄올 생산기술 개발 연구는 미국의 NREL(National Renewable Energy Laboratory)와 TVA(Tennessee Valley Authority), 일본의 NEDO(New Energy Development Organization) 프랑스의 IFP(Institute Française du Petrole)에서 수행된바 있으며 미국의 NREL은 1996년 1일 1톤의 바이오매스를 처리하여 250-300 l의 에탄올을 생산하는 파일럿

플랜트를 건설중에 있다.<sup>9)</sup> 일본과 프랑스는 비슷한 규모의 파일럿 실험을 完了하고 노하우를 確保한 상태로 평가된다.<sup>10,11)</sup>

여기서, 비록 이들 각국이 採擇하고 있는 공정이 조금씩 相異하기는 하지만 [그림 1]에 나타난 전처리, 당화, 발효공정의 세계 최고수준의 工程收率 현황과 미국NREL의 1996년 목표수준을 보면 다음 <표 3>과 같이 요약할 수 있다.<sup>3,9)</sup>

<표 3> 바이오매스 에탄올 생산기술의 세계적 기술수준

구 분	현재 세계수준	미국 NREL의 1996년 목표
1. 증기폭쇄 고행물 회수율	92%	
2. Xylose 회수율	이론치의 55%	
3. 리그린 제거율	85%	
4. 당화율	이론치의 85%	이론치의 90%
5. Glucose(포도당) 발효수율	이론치의 95%	
6. Xylose(자일로스) 발효수율	이론치의 90%	이론치의 95%
7. 셀룰라제 소모율	10-15 IV/g cellulose	3IV/g cellulose

<표 3>에서 보는 각종 工程變數 중에서 바이오매스로부터 에탄올 생산에서 경제성에 가장 影響을 크게 미치는 것은 바이오매스의 糖化率과 Xylose의 回收率이다. 여기서 Xylose의 회수율은 전처리의 방법(여기서는 증기폭쇄법)에 가장 크게 영향을 받으므로 전처리의 방법과 당화공정이 공정의 成敗를 좌우하는 關鍵이다.

한편, 전처리 및 당화공정에 의하여 바이오매스로부터 당액(Xylose, Glucose)의 생산비는 原料費가 약 30%, 전처리 및 당화공정에서 37%를 차지하고 Cellulase효소생산에 약 30%의 費用이 든

다는 分析結果가 있다. 따라서, 당화과정중 Cellulase消耗率도 전체 공정의 경제성에 크게 영향을 주는 요소이다.<sup>12)</sup>

참고로 1992년 시작되어 1996년 완결될 예정인 미국 NREL의 2단계 목질계 에탄올 개발 프로그램의 목표치도 <표 3>에 게재하였다. 이 資料에서 미국의 생산과정 경제성 개선도 당화수율 향상, Xylose 발효수율 향상, Cellulase소모율 저감에 집중되고 있음을 알 수 있다.

#### 나. 전처리 및 당화실험결과 고찰

당 연구실에서는 소형 파일럿 플랜트 건설과 並行하여 목질계 바이오매스의 전처리(증기폭쇄와 알카리 탈리그닌)조건과 당화과정중의 Cellulase 濃度 및 性狀, 糖液의 발효조건을 최적화 하기 위한 一連의 實驗室的 試驗을 실시하였다. 다음에 그 결과를 記述한다.

##### 1) 실험재료 및 방법

먼저, 건조된 Wood Chip(참나무나 신갈나무의 1:1혼합물)을 증기폭쇄기에서 25kg/cm<sup>2</sup>의 압력으로 각각 3, 6, 9분간 폭쇄처리 한후 蒸溜水로 세척하여 Hemicellulose와 기타 溶解物을 제거하고 적절한 농도의 NaOH로 탈리그닌 한 후 폭쇄제 수율을 비교하였다.

폭쇄 및 탈 리그닌의 조건에 따른 Cellulase효소(Celluclast, Novo)와  $\beta$ -glucosidase강화효소(Novozym 188, Novo)에 의한 당화실험을 통하여 효소소모량이 최소가 되는 당화 공정조건을 결정하였다. 덧붙여 당액농도를 높이기 위하여 최적의 전처리 및 당화조건에서 유가식 당화를 행하였다. 마지막으로 생성된 목질계 당액을 Saccharomyces Cesevisiae ATCC 24858을 발효균주로 사용하여 30°C의 온도에서 알콜발효를 행하고 발효의 최적 조건을 결정하였다.

還元糖 농도는 DNS법으로 측정하였고,<sup>13)</sup> 포도당 농도는 효소법<sup>14)</sup>으로 Cellulase효소의 역가는

Fiter Paper 활성도 측정법으로 정량하였으며<sup>15)</sup>, 리그닌 분석은 한국공업규격(KSM7045)에 준하여 정량하였다<sup>16)</sup>. 에탄올 농도는 가스크로마토그래피로 Iso-propanol을 내부표준 물질로 하여 정량하였다. 효모의 농도는 540nm에서의 흡광도로 효모 균체량은 80°C에서의 건조감량으로 측정하였다.

##### 2) 실험결과 및 고찰

가) 전처리 조건에 따른 폭쇄제의 수율 및 리그닌 함량

폭쇄 시간과 탈리그닌에 사용된 NaOH농도등 전처리 조건에 따른 폭쇄제의 수율과 리그닌 함량을 결정하기위해 25kg/cm<sup>2</sup>의 증기압에서 3, 6, 9분간 폭쇄처리후 건조를 마친 폭쇄제 50g을 冷水, 0.2%, 1% NaOH용액으로 각각 탈리그닌한후 건조하여 폭쇄제 수율을 측정하였다. <표 4>에 나타난 바와 같이 동일한 농도의 NaOH로 탈리그닌을 하는 조건에서는 폭쇄시간이 길수록 폭쇄제의 수율은 낮았다. 동일 폭쇄시간을 거친 폭쇄제에서는 탈리그닌에 사용한 NaOH농도가 높아짐에 따라 수율은 낮아졌다. 따라서 Wood의 수율만 고려할때 폭쇄시간은 짧게 탈리그닌 공정에 사용하는 NaOH용액의 농도는 낮게 유지하는 것이 유리하다. 최적 폭쇄시간과 NaOH농도는 효소당화와 같이 고려하여야 하므로 뒤에서 다시 논의하기로 한다.

<표 4> 전처리 조건에 따른 폭쇄제 수율(%)

NaOH 농도(%)	0	0.2	1.0
폭쇄시간(분)			
3	77	60	56
6	76	55	52
9	73	50	47

전처리 조건에 따른 폭쇄제내 리그닌 함량을 분석한 결과를 <표 5>에 나타냈다. 표에서 보는바와 같이 냉수추출의 경우 폭쇄시간이 길어질수록

폭쇄재내 리그닌함량은 높아졌다. 특히 폭쇄 시간이 6분에서 9분으로 증가함에 따라 리그닌 함량은 급격히 증가 했다. 이 현상은 폭쇄재중의 Hemicellulose의 용출로 상대적으로 리그닌 比率이 높아졌기 때문으로 생각된다.

폭쇄재를 NaOH용액으로 탈리그닌시 냉수추출에 비해 리그닌 함량은 현저히 낮았다. 그러나 NaOH용액의 농도가 0.2%에서 1%로 증가하는데 따른 리그닌 함량의 감소는 미미했다. 따라서 탈리그닌 공정에서 최적 NaOH농도는 고품물(Cellulose)의 수율, NaOH 費用, 탈리그닌 후처리 공정등을 고려할때 0.2% NaOH용액을 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

<표 5> 전처리 조건에 따른 폭쇄재내 리그닌 함량(%)

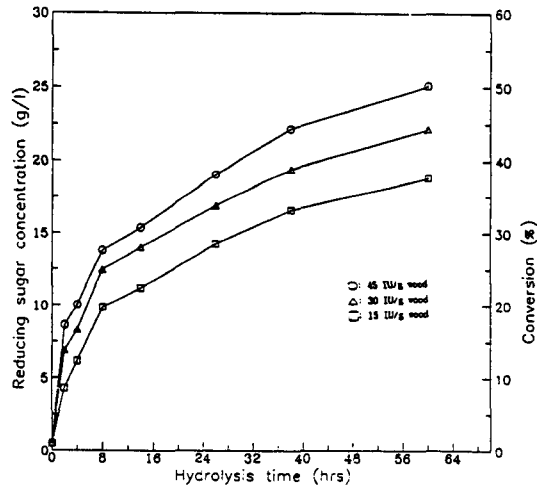
폭쇄시간(분)	NaOH(%)		
	0	0.2	1.0
3	28.7	17.3	16.9
6	29.7	11.7	8.9
9	39.6	8.6	8.4

한편, 폭쇄처리의 시간이 효소당화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 증기압 25Kg/cm<sup>2</sup>의 폭쇄 조건에서 3, 6, 9분간 폭쇄한 시료를 0.2% NaOH로 탈리그닌한 후 효소당화한 결과 3분간 폭쇄한 시료는 6, 9분간 폭쇄한 시료에 비해 당화속도가 매우 낮아 60시간 당화시 전환율은 35%에 불과했다. 6분과 9분간 폭쇄한 시료는 당화율이 비슷하였으며 60시간 당화율은 각각 47%, 50%였다. 따라서, 당화율을 고려할 경우 25Kg/cm<sup>2</sup>의 증기압에서 폭쇄시 폭쇄시간은 6분이상이 되어야 한다는 것을 알 수 있다. 또한 폭쇄재의 수율(<표 4>참조)과 전처리 장치의 생산성을 감안 하면 6분 동안 폭쇄반응 시키는 것이 가장 합리적인 것으로 판

단되었다.

나) Cellulase농도 및 β-glucosidase 添加가 당화에 미치는 영향

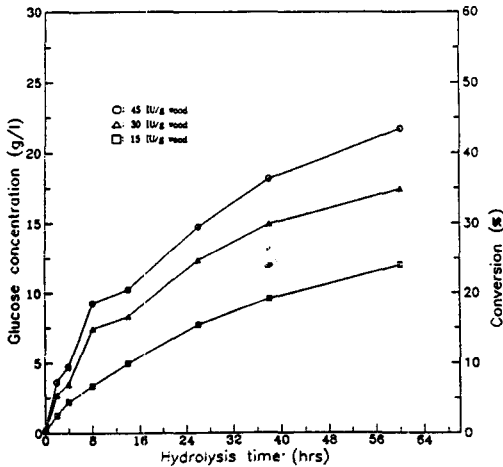
25Kg/cm<sup>2</sup>의 증기압에서 6분 폭쇄처리후 0.2% NaOH로 탈리그닌 하여 준비한 시료를 기질로 하여 첨가 Cellulase효소량을 1, 2, 3ml(15, 30, 45 IU/g substrate)로 변화시키며 60시간 당화한 결과를 [그림 2] [그림 3]에 나타냈다.



[그림 2] 0.2% NaOH로 탈리그닌한 폭쇄재의 첨가효소량에 따른 환원당 생성곡선(폭쇄 시간: 6분)

효소 농도의 증가에 따라 당화속도 및 당화율은 比例增加하였으며 3ml 효소 첨가시 60시간 당화후 환원당 농도와 당화율은 각각 25.1g/l 와 50%로서 가장 높았다. 1ml의 효소첨가 경우 환원당 농도와 전환율은 18.8g/l 와 38%이었다. 환원당중 포도당 分率은 3ml 효소 첨가시 86%이었고 1ml 효소첨가때 포도당 分율은 64%로서 첨가 효소량이 증가함에 따라 전환율과 환원당중 포도당 分율이 동시에 증가함을 알 수 있다.



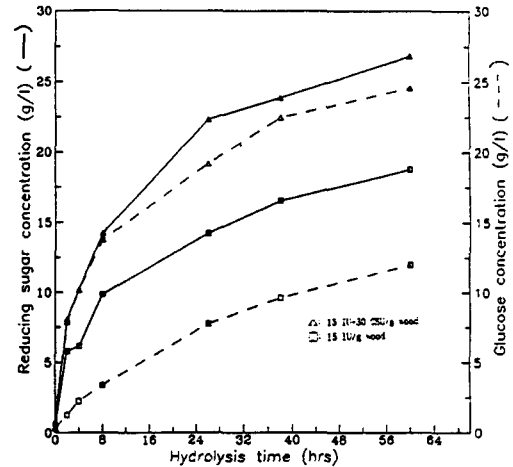


[그림 3] 0.2% NaOH로 탈리그닌한 폭쇄재의 첨가효소량에 따른 포도당 생성곡선(폭쇄 시간: 6분)

Cellulase만 넣고 폭쇄재를 당화하는 경우에는 환원당중 포도당 비율이 가장 높은 경우에도 그값은 80%내외여서 Cellobiose에 의한 酵素抑制효과가 있는 것으로 생각된다. 그러므로,  $\beta$ -glucosidase를 첨가하므로서 Cellobiose를 Glucose로 전환시켜 효소억제효과를 줄이는 가능성을 검토하였다.

비교적 높은 당화율과 Wood수율을 나타낸 6분 폭쇄, 0.2% NaOH에서 전처리된 폭쇄재 5g을 기질로 Cellulase 1, 2, 3ml(15, 30, 45 IU/g 기질)와 Novozym 188을 0.6ml(30CBU/g 기질)를 첨가하여 당화실험을 수행한 결과 효소 1, 3ml와 Novozym 188의 첨가후 당화시 60시간 경과후 환원당 농도는 각각 26.8, 27.3g/l 로써 거의 차이가 없었다. 따라서  $\beta$ -glucosidase를 첨가하여 당화할 때는 Cellulase의 첨가량을 줄일 수 있음을 알 수 있다.

[그림 4]에는 폭쇄재를 0.6ml의 Novozym 188 ( $\beta$ -glucosidase)과 1ml의 Celluclast(Cellulase) 혼합효소액을 첨가한 경우와 1ml의 Celluclast만 첨가한 경우에 대해 당화한 결과의 비교를 나타냈다.



[그림 4]  $\beta$ -glucosidase첨가에 따른 환원당과 포도당 생성곡선

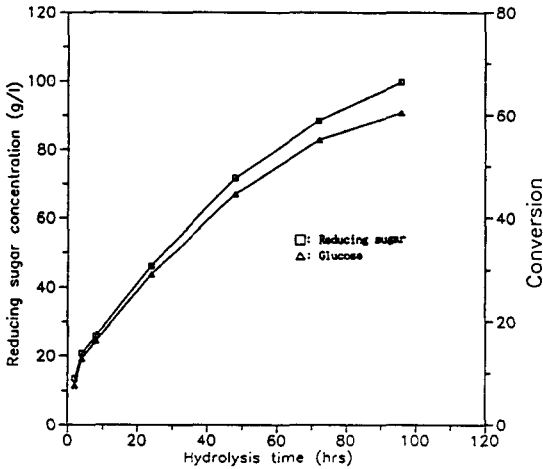
$\beta$ -glucosidase가 첨가된 경우는 최종 환원당 농도가 각각 26.9g/l, 24.6g/l 인데 비해  $\beta$ -glucosidase가 첨가되지 않은 경우에는 21.5g/l, 12.0g/l 로써  $\beta$ -glucosidase의 첨가로 Cellobiose가 거의 Glucose로 전환돼 효소억제효과가 크게 줄어들었으며, 그 결과 당화율이 약 20%가량 향상되었고 환원당중 포도당 비율도 약 92%로 증가함을 알 수 있다.

또한,  $\beta$ -glucosidase첨가시에는 Cellulase사용량을 3ml(45 IU/g기질)에서 1ml(15 IU/g기질)로 약 67%가량 줄여도 동일한 당화율을 얻을 수 있음을 알 수 있다([그림 2] 참조).

#### 다) 유가식 당화공정

당화공정에서 생성되는 환원당 농도를 높이기 위해 Fed-batch방식으로 당화를 수행하였다. 50g의 폭쇄재와 790ml의 Citrate buffer용액을 넣고 20ml의 Celluclast와 6ml의 Novozym 188을 넣어 충분히 높은 효소농도(30 IU Cellulase+28CBU  $\beta$ -Glucosidase/g 폭쇄재)를 유지하도록 하였다. 적당한 시간 간격으로 20g의 폭쇄재와 8ml의 Celluclast, 3ml의 Novozym(28 CBU/g 폭쇄재)을

투입하여 효소농도를 일정하게 유지하였다. 폭쇄재 투입은 당화시작 48시간후 마쳤으며 Slurry농도가 13%(w/v)가 되도록 하였고 96시간에서 당화를 마쳤으며 당화 결과는 [그림 5]에 나타냈다.

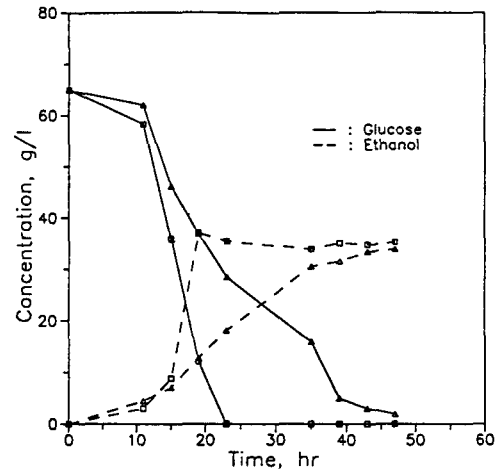


[그림 5] 2L 발효기에서 유기효소당화로 13%(w/v) 폭쇄재의 Celluclast(30IV/g기질)와 Novozym 188(28CBU/g기질) 첨가당화시 환원당 및 포도당 생성곡선

폭쇄재를 유가방식으로 당화할 경우 13%(w/v)까지 운전이 별 문제가 없었으며, 최종 환원당과 Glucose농도는 각각 99.7g/l, 90.8g/l로서 포도당 농도는 직접 알콜발효가 가능할 수 있을 정도로 높았다. 그러므로 생성 당농도를 높이기 위해서는 Fed-batch방식의 사용이 고려되어야 할 것이다.

#### 라) 당화액의 발효

당화액의 발효특성을 조사하기 위해 순수한 당화액(포도당 농도 65g/l)배지와 당화액에 알콜발효에 필요한 성분을 보충한 배지에 대해 알콜발효를 하였다. [그림 6]에 나타난 바와 같이 필요성분을 보충한 배지에서는 발효시작 20시간만에 포도당 농도가 0으로 떨어져 발효가 실질적으로 완료되었음을 보여준다.



[그림 6] 당화액의 알콜발효에서 효모 배양배지 첨가의 영향: (□)배지가 첨가된 당화액, (△)순수한 당화액

반면 순수한 당화액의 알콜발효는 38시간이 지나야 포도당 농도가 0에 접근 했다. 또한 최종 에탄올 농도는 각각 35.0g/l와 34.0g/l로서 필요 성분이 보충된 발효에서 에탄올 농도가 약간 높은 반면 에탄올 생성수율은 0.95와 0.96으로 순수 당화액의 발효시 약간 높았다.

#### 3) 결 론

최적 전처리 조건은 증기폭쇄 시간 6분, 탈리그닌은 0.2% NaOH추출로 밝혀졌다. 한편, 효소당화시 당화속도 및 당화율은 투입효소(Cellulase)량에 비례하여 증가하였으나 효소투입량을 줄이고 환원당중 포도당 분율을 높이기 위하여는  $\beta$ -glucosidase의 첨가가 요구 되었다.  $\beta$ -glucosidase첨가시(30CBU/g기질 내외) 최소 Cellulase효소농도는 15 IV/g기질 이었으며 당화율은 55%이며 포도당 분율은 92%이었다. 상기한 효소농도 조건을 유지 하면서 13%(w/v)의 폭쇄재로 유가식 당화(Fed-batch Hydrolysis)를 수행하면 96시간 경과시 환

원당 및 포도당 농도는 각각 99.7g/ℓ, 90.8g/ℓ이며 최대 당화율은 60%를 보였다.

결과로 얻은 효소당화액(약 65g/ℓ 포도당 농도)은 성장배지를 첨가하지 않아도 약 38시간 이후에 34g/ℓ의 에탄올을 생산하며 발효완료되었고, 에탄올 생성 수율은 이론치의 약 96%이었다.

#### 4. 앞으로의 전망

지금까지 輸送用 연료로서 바이오매스로부터 에탄올을 생산하여 사용할 必要性, 經濟性과 世界的 기술개발 수준을 記述하고 당연구실의 연구결과를 紹介하였다. 앞서 <표 3>에 提示하였던 세계최고의 기술수준에 비하여 우리의 同分野 기술수준은 상당히 뒤떨어져 있다. 예를들면 糖化率의 경우 현재의 세계수준은 理論值의 85% 수준임에 비하여 국내수준은 最大 60% 정도의 수준이며 Cellulase 消耗率도 15 IV/g기질 수준으로 앞으로 10 IV/g기질 이하의 수준으로 낮추어야만 목질계 에탄올 생산의 경제성이 改善될 것이다.

한편, 목질계 바이오매스 성분의 약 25-30%를 차지하는 Hemicellulose의 分解生成物인 Xylose의 回收나 醱酵에 의한 에탄올로의 轉換工程에 관하여는 세계적으로도 實驗室的 연구에 머물고 있는 수준이긴 하지만 국내에서는 本格的으로 實驗檢證된 바 없으며, 酵素糖化를 위한 Cellulase의 생산에 관하여도 技術蓄積이 未洽하다. 그러므로, 공정중 Xylose의 회수율의 極大化를 위한 蒸氣爆碎, 抽出 등 전처리 공정의 最適化가 이루어져야 하겠으며, Xylose를 효과적으로 발효하여 에탄올을 생산할 수 있는 菌株의 개발에도 더욱 노력하여야 할 것이다. 당화효소인 Cellulase의 생산공정은 당연구실에서 基礎研究에 着手하였으며 Xylose의 발효균주 개선은 국내의 他研究 그룹(본지 이번호 게재 논문 참조)에서 연구를 進行中에 있다.

당 연구실에서 建設中인 바이오매스로부터 에탄

올 생산을 위한 일 20리터 에탄올 생산 規模의 小型 Pilot Plant가 완성되는 1996년도 말 경에는 우리나라도 세계수준의 關聯 技術력을 保有할 것을 목표로 積極的인 연구를 추진중에 있다.

「이 論文은 大韓民國 商工資源部에서 施行하는 代替에너지 技術開發事業(契約番號: 931C202-617 AP1)의 수행결과이며 支援을 感謝드립니다.」

#### <참고 문헌>

- 1) Jones, J. L. and Semrau, K. T.(1984) Biomass, 5, pp109-135
- 2) D. Ryu et al. (1979) Biotechnol. Bioeng. 21, p1887-
- 3) Nguyen, Q. A. and Saddler, J. N.(1991) Bioresource Technol., 35, pp275-282
- 4) 이영우(1991) 제4회 신재생에너지 기술개발 및 동향에 관한 세미나, 28th June, Seoul, Korea
- 5) Desmarquest, J. P. and Requillat, V.(1989) Proc. 5th EC Conference of Biomass for Energy and Industry, Lisbon, Portugal, Vol. 2., pp2.869-2.875
- 6) Private communication from RAPAD, Japan(1991)
- 7) 이계호(1993) 酒類工業, Vol. 13, No. 3, pp47-63
- 8) 박순철외(1993) “목질계 수송연료용 알콜제조 파일럿 플랜트 건설운전 연구(I)”, 대체에너지 연구개발 사업보고서, 931C202-617AP1, 상공자원부
- 9) NREL(1993) “Biofuels: Program Plan FY 1992-FY1996” USDOE report, DOE/CH 10093-186
- 10) Miyakawa et al. (1986) Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 17

- 
- 11) D. Ballerini et al. (1992) Biofutur No. 113, pp47-40(in French) Source unknown, pp1256-1260
- 12) V. Requillart "An economic model of biotechnological ethanol production processes" 13) Miller, G. L. (1959) Anal. Chem., 31, pp426-428
- 14) 영동제약, Glucose Kit 사용설명서

Losers spend time explaining why they lost. Losers spend their lives thinking about what they're going to do. They rarely enjoy doing what they're doing.

패자는 그들이 왜 패했는지를 설명하느라 시간을 보내고, 무엇을 할것 인가를 생각하느라고 인생을 허비한다. 그들은 현재하고 있는 일을 즐기는 법이 거의 없다.

-Dr. Eric Berne-