

## 식물 *Dahlia Pinnata* 구근에서의 에탄올 생산을 위한 연구

김 광

동아대학교 공과대학 화학공학과  
(1992년 1월 15일 접수, 1992년 6월 8일 채택)

## Ethanol Production by Sugars Derived from *Dahlia Pinnata* Tubers

Kwang Kim

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Dong-A University  
(Received 15 January 1992; accepted 8 June 1992)

### 요 약

바이오매스를 이용한 대체 에너지의 개발로서 식물 다알리아 구근에 포함된 이눌린을 탄소원으로 하여 에탄올 발효를 시도하였다. 다알리아 구근의 추출액을 배지로 하여 효모 *Kluyveromyces fragilis* CBS 1555 및 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126에 대한 에탄올 발효의 최적조건을 결정하고, 회분발효의 속도론적 결과를 나타내었다. 다알리아 구근의 시료를 85°C에서 1단계 추출한 착즙의 농도는 총당으로 표현하였을 때 90-203 g/l의 당을 포함하였다. *S. cerevisiae* 세포를 Ca-alginate로 고정화하여 충전층 반응기에 의하여 다알리아 구근의 추출액으로부터 연속적으로 에탄올 발효를 시도하였다. 희석율 0.1 hr<sup>-1</sup>에서 에탄올 수율은 0.92 g-EtOH/g-Sugar이었고, 희석율 0.4 hr<sup>-1</sup>에서는 0.57 g-EtOH/g-Sugar로 변화하였다. 희석율 0.18 hr<sup>-1</sup>에서 최대 에탄올 수율 0.98 g-EtOH/g-Sugar로써 35일간 연속발효를 시행한 결과 24일까지는 에탄올 농도가 100-126 g/l을 유지될 수 있었다.

**Abstract**—This study examines the potential of *Dahlia pinnata* as an alternative energy source for ethanol. Experimental results are presented as batch fermentation kinetics for two strains of *Kluyveromyces fragilis* CBS 1555 and *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 grown on the extract derived from the tubers of *Dahlia pinnata*. In the first extraction stage, the range of sugar concentration was 90-203 g/l in terms of total sugars. *Saccharomyces cerevisiae* cells were immobilized in Ca-alginate beads and used in a packed-bed bioreactor for the continuous production of ethanol from the extract of *Dahlia pinnata* tubers. Ethanol yield varied from 0.92 g-EtOH/g-Sugar utilized at D=0.1 hr<sup>-1</sup> to 0.57 g-EtOH/g-Sugar utilized at D=0.4 hr<sup>-1</sup>. The results presented in this study show that immobilized cells of *S. cerevisiae* have a high potential for fuel ethanol production from *Dahlia pinnata* tubers. The immobilized cell bioreactor was operated continuously at a constant dilution rate of 0.18 hr<sup>-1</sup> for 35 days. The maximum ethanol yield was found to be 0.98 g-EtOH/g-Sugar.

### 1. 서 론

석유와 천연가스와 같은 전통적인 석유화학 에너지 자원인 화석연료는 자원측면에서 볼 때 재생 불가능할

뿐 아니라 공해문제의 심각성 및 인구증가와 기술개발로 인한 수요량증가는 계속 가격을 상승시키는 반면에, 자원보유량은 계속 감소하고 있는 실정이다[1, 2]. 세계적인 석유파동 이래 재생산성이 있고 무공해 석유대체에

너지 개발을 위하여 재생가능한 자원으로부터 에탄올, 메탄 및 수소와 같은 전환연료의 생산에 대한 연구에 관심을 갖게 되었으며, 실제적으로, 자동차연료로 에탄올 자체 혹은 가솔린에 에탄올을 혼합한 가스홀의 이용실험과, 강화된 대기오염기준의 달성을 위해 고압축화로 고효율의 효과와 가속성 향상이 뚜렷한 메탄올 구동의 대체연료 승용차의 개발을 추진하고 있다[3-6].

알콜발효의 원료로 이용될 수 있는 탄수화물은 사탕수수나 사탕무로부터 추출되는 당질, 옥수수나 곡물로부터의 전분, *Dahlia*나 돼지감자로부터의 inulin, 그리고 cellulose 45%, hemicellulose 25%, lignin 20% 정도 구성된 섬유질 등이다[7]. 특히 전분질로부터 에탄올을 생산하기 위해서는 전분분해효소로 처리하여 당으로 전환시키는 과정이 필요한데, 이눌린을 다량 포함하고 있는 식물 추출물에 대해서도 과당을 얻기 위해 가수분해단계가 필요하다. 이눌린의 일부는 물에 용해할 수 있는 사슬길이가 짧은 과당중합체로서 존재하며 5-15%의 포도당을 포함하고 있으므로 효소 Inulase에 의한 가수분해방법이 효과적으로 알려져 있다[8-10]. 과당은 용해하기 쉬운 환원당으로써 알콜발효에 효과적이므로 대체에너지자원으로서의 활용성 뿐만 아니라 식품공업에도 그 이용도가 넓다[8].

전분질을 원료로 하는 음료용이나 공업용 에탄올의 대량생산에 *Saccharomyces cerevisiae* 효모가 이용되고 있으며, *Kluyveromyces fragilis*는 효소 Inulase 생성 및 에탄올 생성효율이 좋은 균주로서 이눌린으로부터 직접 알콜로 전환하는데 우수한 것으로 보고된 바 있다[9, 10]. 본 실험에 사용된 chicory과의 *Dahlia* 구근은 이눌린 함유량이 풍부하여 과당 제조원료로 사용되고 있

으며 다양한 품종과 기후나 토질에 알맞게 재배될 수 있고 분구, 껍질, 껍질, 실생 등의 방법으로 대량으로 수확가능한 관상용 식물로 알려져 있다[11]. 본 연구에서는 식물 *Dahlia* 구근즙을 수확계절별로 선택하여 대체에너지로서의 에탄올 전환 가능성을 조사검토하고, 생물반응계에서 효모 *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Kluyveromyces fragilis*에 의한 각각의 알콜발효공정을 비교하고, *Dahlia* 구근을 추출한 당즙 자체만으로 알콜발효를 실행할 경우와 추출된 시료를 Inulase와 Invertase에 의해 효소가수분해하여 처리한 결과에 따른 kinetic parameter를 결정하여 실용화 가능성을 위한 생산성 최적화에 대한 연구를 시도하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2-1. 재료

본 실험에 사용된 *Dahlia pinnata* 괴근은 1986-1988년의 종자를 부산에서 직접 3월에 파종하여 8-11월에 수확하여 깨끗이 세척한 후 mixer에 의해 잘게 부수어 시료무게와 동일량의 증류수를 가하여 85℃에서 3시간 숙성시킨 후 추출하였다. 2단계 추출부터는 121℃, 15 psig 압력하에서 20분동안 증압시켜 착즙하고 단계적으로 같은 방법으로 하여 당이 거의 나오지 않을 때까지를 최종 추출단계로 정하였다. Table 1은 수확계절 및 품종에 따른 단계적 추출효과를 측정된 결과로서 2단계까지의 추출에서 총 당의 80-90%로 추출되어, 착즙의 농도는 110-210 g/l의 당을 포함하고 있었다.

알콜발효 가능성과 구성성분의 함량을 측정하기 위해 원료분석을 한 결과는 Table 2와 같다. *Dahlia* 괴근의

Table 1. Water extraction of sugar from *Dahlia pinnata* tubers

Harvest date		August		September	October			November		
Cultivation place		Sugar concentration(g/l)								
		Cultivation at home garden of Pusan						cultivation at Dong A University gardening place		species from Japan which were cultivated in pusan
	1	94.8	97.6	106.4	134.4	154.2	146.9	166.8	144	203
		(75.8)	(75.8)	(75.2)	(75.8)	(77.3)	(72.3)	(72.6)	(78.6)	(75.8)
	2	19.6	19.9	19.5	27.7	30.3	32.6	40.2	34.7	42
		(15.7)	(15.5)	(13.8)	(15.6)	(15.2)	(16.0)	(17.5)	(19.0)	(15.7)
	3	7.8	8.2	10.1	11.0	11.4	18.8	13.9	3.3	16.6
		(6.2)	(6.4)	(7.1)	(6.2)	(5.7)	(7.2)	(6.1)	(1.7)	(6.2)
	4	2.9	3.1	5.5	4.2	3.6	5.0	8.7	1.2	6.2
		(2.3)	(2.3)	(3.9)	(2.4)	(1.8)	(2.5)	(3.8)	(0.7)	(2.3)
	5	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0	ca.0
Total sugar		125.1	128.8	141.5	177.3	199.5	203.3	229.6	183.6	267.8

\* ( ): Extraction efficiency(%)

**Table 2. Composition of *Dahlia pinnata* tubers**

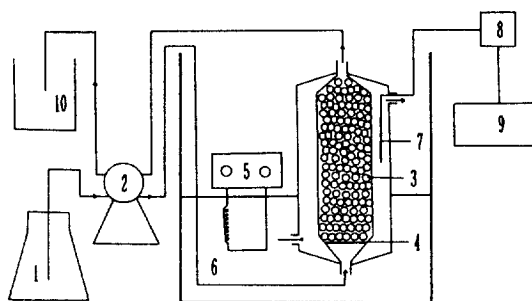
Compound	Composition(wt% wet basis)
Total dry matter	20.6-22.77
Moisture	79.4-77.23
Composition(wt% wet basis)	
Carbohydrates	76.2-84.5
Cellulose + hemicellulose	8.27
Nitrogen	0.95-1.18
Ash	4.6-6.05

대부분이 이눌린으로 구성되어 있고, 직접 알콜발효에 관여될 수 있는 환원당은 총 당함량의 35-41%이며 총 당함량은 9.5-20.3%를 차지하였는데 수확시기와 품종 등에 따라 큰 차이를 보였다.

발효원액을 멸균하여 sodium acetate buffer(pH 5.0) 용액으로 희석하여 효소 Invertase 6 unit/ml(순정화학, 입상, 4500 unit/g)와 효소 Inulase 6 unit/ml(Novozym 230, 1500 unit/g, KIN 0001, 87-2)로써 50°C, 1시간동안 water bath에서 반응시켜 가수분해하였다. Inulase에 의한 가수분해는 비환원당 70 g/l 이하에서 환원당으로의 전환이 87%이고, Invertase의 가수분해효과는 23% 정도였다. 실험에 사용된 균주는 한국과학기술원 유전 공학센터 및 한국종균협회에서 *Kluyveromyces fragilis* CBS 1555와 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126을 각각 분양받아 사용하였다.

## 2-2. 분석방법

총 당의 정량은 Anthrone법[12]으로, 일정시간의 발효액을 원심분리하여 총 당농도가 0.01-0.4 g/l의 범위로서, 희석을  $2 \times 10^{-4}$ 으로 UV/VIS Spectrophotometer (Perkin-Elmer 550S)를 사용하여 620 nm에서 흡광도를 측정하고 표준당농도곡선으로부터 농도를 측정하였다. 환원당은 Somogyi-Nelson법[13]으로, 측정용액의 환원당농도가 0-0.01 g/l의 범위로서, 희석을  $1 \times 10^{-3}$ 으로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 에탄올 농도는 Gas Chromatograph(GOW MAC-SERIES 750)에 의해 분석하였는데 Porapak Q 80/100 column은 FID detector로서 230°C에서 adsorption medium으로 사용하였다. 균체량 측정은 일정시간 간격으로 발효액을 채취하여 원심분리하고 100-110°C로 유지된 건조기에서 4시간 이상 건조시켜서 무게변화가 없을 때를 균체량으로 하였다. 고정화 bead 내의 세포수 측정은 0.2 M의 potassium phosphate 10 ml에 bead 10개를 넣어 완전히 녹인 후 Hemacytometer와 Particle Size Analyzer(Model Luzax-450)로 세포수를 측정하였다.



1. Substrate reservoir
2. Peristaltic pump
3. Beads with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces fragilis* cells
4. Support(sintered glass filter)
5. Thermostat and circulator
6. Water bath
7. Temperature sensor
8. Interrupter
9. Personal computer
10. Product reservoir

**Fig. 1. Schematic diagram of the experimental packed bed reactor system.**

## 2-3. 실험장치

본 실험에 사용된 회분반응기는 내경 8 cm, 높이 15 cm의 원통형으로서 magnetic stirrer에서 teflon bar에 의해 620 rpm으로 교반하였으며 항온조를 사용하여 30°C로 유지시켰다. 미생물 고정화에 의해 충전된 연속반응기는 Fig. 1에 나타내었는데 내경 2.1 cm, 높이 25 cm의 이중원통형 컬럼으로서 액상채적은 반응기 체적 88 ml의 15.7% 이었다. 충전층 반응기에 대한 희석율은 Levenspiel[14]에 의한 액상체류시간의 역으로부터 계산되었다. 기질의 pH는 0.1 N-HCl로서 pH 5.0으로 조절하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. *Dahlia* 괴근 추출액의 직접 발효

Fig. 2, 3은 *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Kluyveromyces fragilis*에 의해 효소가수분해하지 않은 *Dahlia* 괴근 추출액의 발효에서 시간에 따른 총 당, 환원당, 에탄올 생성량, 균체량의 변화량을 나타내고 있다. Fig. 2, 3에 의하면 발효기질의 초기 총 당농도 100 g/l에서 *S. cerevisiae*는 발효율(F)과 총괄 에탄올 생산성(Q)이 각각 67%, 1.42 g/l·hr이고, *K. fragilis*는 각각 84.1%, 2.06 g/l였다. 초기 총 당농도를 기준할 때 최대 에탄올 농도( $P_{max}$ )는 *S. cerevisiae*가 20시간에서 30.2 g/l, *K. fragilis*는 18시간에서 38.9 g/l이었다.

최대 비성장속도( $\mu_{max}$ ), 균체수율( $Y_{xs}$ )은 각각 *K. fra-*

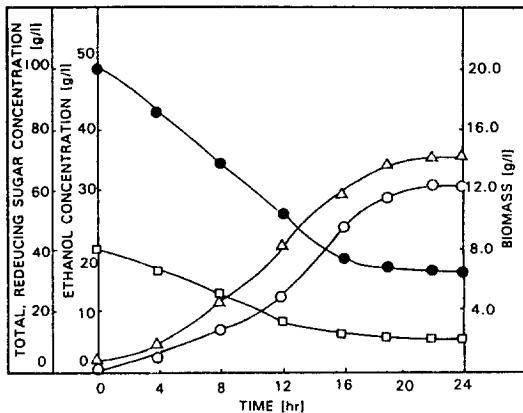


Fig. 2. Batch fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* in *Dahlia pinnata* tuber juice containing 100 g/l total sugars: variation of (Δ-Δ) biomass, (○-○) ethanol, (□-□) reducing sugar, and (●-●) total sugar with time.

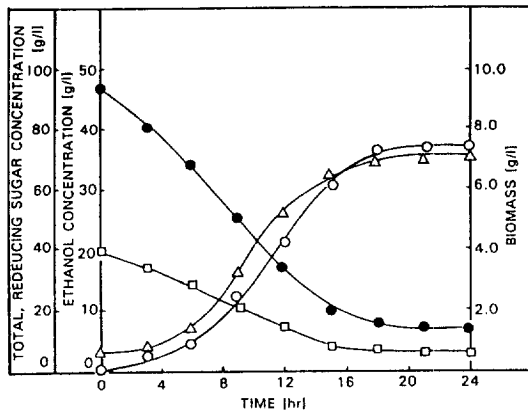


Fig. 3. Batch fermentation of *Kluyveromyces fragilis* in *Dahlia pinnata* tuber juice containing 92.8 g/l total sugars: variation of (Δ-Δ) biomass, (○-○) ethanol, (□-□) reducing sugar, and (●-●) total sugar with time.

gillis가  $0.30 \text{ hr}^{-1}$ , *S. cerevisiae*가  $0.32 \text{ hr}^{-1}$ , 0.216 이므로 최대 균체량( $X_{max}$ )이 *K. fragilis*가 7.13 g/l인데 비하여 *S. cerevisiae*는 14.38 g/l로 두배정도 높았다. 균체량이 증가함에 따라 에탄올 비생성속도( $q_e$ )와 기질 비소모속도( $q_s$ )는 각각 *K. fragilis*가 1.403 g/g·hr, 3.158 g/g·hr이고 *S. cerevisiae*는 0.833 g/g·hr, 1.303 g/g·hr로서 *K. fragilis*보다 감소함을 알 수 있다.

위에서 속도론적 변수를 비교한 바와 같이 *Dahlia* 괴근 추출액 자체만으로 발효를 실행할 경우 *S. cerevisiae*는 기질 내 비환원당의 가수분해효과가 부족하여

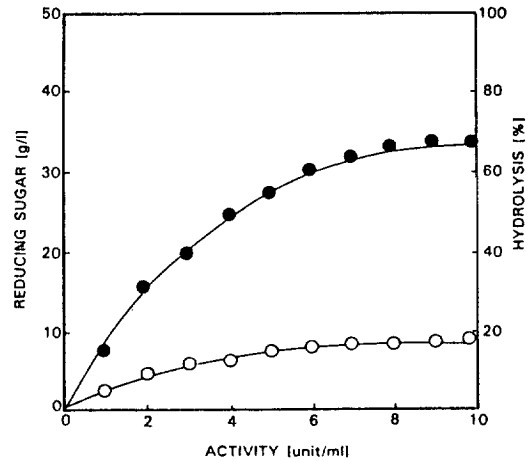


Fig. 4. Effect of hydrolysis from *Dahlia pinnata* tuber juice containing 50 g/l nonreducing sugar with enzyme activity: inulase (●-●), invertase (○-○).

발효시간이 지남에 따라 총 당에 대한 환원당의 mass ratio가 감소되고 있는 것은 효소 Inulase 생성효과는 거의 없으며, 발효기질에서의 효소 Invertase 생성으로 환원당만을 주발효원으로 소모시키고 있음을 알 수 있다. 반면에 *K. fragilis*는 총 당 및 환원당의 소모비율이 거의 일정한 것으로 보아 효소 Inulase 생성효과에 의해 기질 내 비환원당의 효소가수분해도 동시에 일어남을 알 수 있다.

### 3-2. 효소(Inulase 및 Invertase)의 *Dahlia* 괴근 추출액에 대한 특성과 미생물에 의한 회분발효

*Dahlia* 괴근 추출액을 비환원당의 농도가 50 g/l가 되도록 희석하여 효소 Inulase와 Invertase를 각각 1-10 unit/ml를 반응시켜 Somogyi-Nelson법에 의해 환원당을 측정함으로써 가수분해효과에 의한 효소활성도를 조사하였고 그 결과를 Fig. 4에 표시하였다.

실험결과에 의하면 *Dahlia* 괴근 추출액의 탄수화물 대부분은 이눌린으로 구성되어 있으므로 다당류인 이눌린을 분해하는 효소인 Inulase에는 효율적으로 가수분해되나 sucrose 이외에  $\beta$ -fructofuranoside를 fructose와 glucose로 가수분해되는 Invertase( $\beta$ -D-fructosidase)에서는 그 효율이 낮았는데 이는 기질 내에 저중합도의 환원당이 적게 존재함을 의미한다고 할 수 있다. 또한 효소 Inulase와 Invertase가 각각 효소 활성도 6 unit/ml까지는 비교적 빠르게 가수분해를 시켜 Inulase는 60%의 효율을, Invertase에서는 16%의 가수분해효과를 가짐을 알 수 있다. 추출액의 비환원당의 농도를 주로

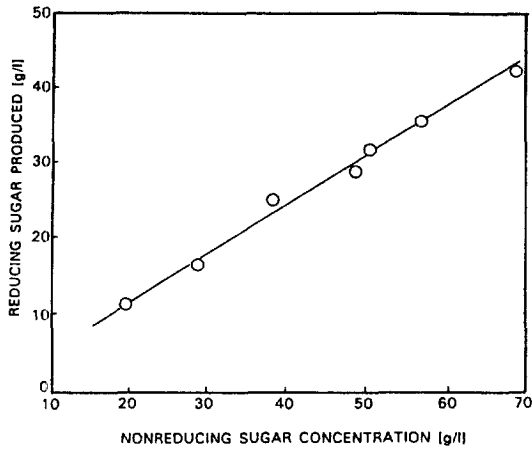


Fig. 5. Effect of nonreducing sugar concentration from *Dahlia pinnata* juice on hydrolysis by inulase(6 unit/ml).

발효기질로 사용되는 범위인 10-70 g/l가 되도록 희석하여 효소 Inulase 활성도 6 unit/ml를 반응하여 환원당을 측정하여 비환원당의 농도에 따른 가수분해효과를 Fig. 5에 표시했다.

비환원당의 농도가 70 g/l까지 일정하게 환원당의 농도가 증가하는 것은 비환원당 70 g/l 농도까지는 *Dahlia* 괴근 추출액을 기질로 하여 에탄올 발효를 실시할 경우 효소저해는 받지 않음을 알 수 있다.

Fig. 6은 *Dahlia* 괴근 추출액을 효소 Inulase 활성도 6 unit/ml로 가수분해하여 초기 총 당농도가 110 g/l로 된 발효기질에 대한 *S. cerevisiae*에 의하여 에탄올 최분발효를 시행한 결과이다.

효소 Inulase에 의하여 효과적으로 가수분해된 기질에서의 발효에 있어서 총 당에 대한 환원당의 mass ra-

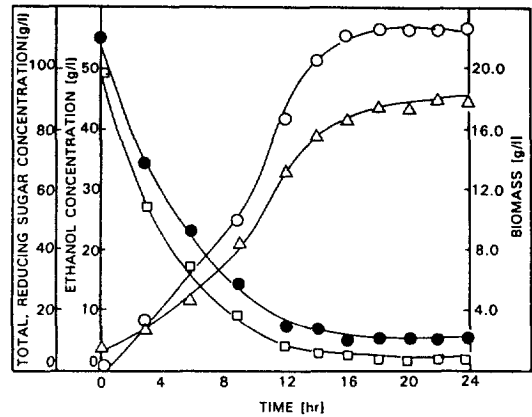


Fig. 6. Batch fermentation *Saccharomyces cerevisiae* in *Dahlia pinnata* tuber juice containing 110 g/l total sugar on the effect of inulase activity(6 unit/ml): variation of (Δ-Δ) biomass, (○-○) ethanol, (□-□) reducing sugar, (●-●) total sugar with time.

tio가 증가됨을 알 수 있고 최대 에탄올 농도는 16시간에서 55.3 g/l로서 *Dahlia* 괴근 추출액을 직접 발효와 비교해서 동일한 초기당농도를 기준할 때 22.1 g/l증가되었다. 또한 총괄 에탄올 생성율( $Q$ ) 및 에탄올 수율( $Y_{p/s}$ )은 각각 3.45 g/l·hr, 0.567 g-EtOH/g-sugar를 나타내었는데 *S. cerevisiae*는 비환원당인 이눌린의 에탄올 발효능력은 부족하나 환원당에 대해서는 우수한 발효능력을 가지고 있음을 알 수 있다. 이 때의 최대 비성장속도( $\mu_{max}$ )는 0.339 hr<sup>-1</sup>로서 최대 균체량( $X_{max}$ )이 17.68 g/l이었다. 그리고 *K. fragilis*는 자체 Inulase생성만으로 환원당으로의 전환이 충분하여, Inulase에 의한 전처리 가수분해효과는 크지 않았다. *Dahlia* 괴근의 1단계 추출액을 효소 Inulase 6 unit/ml활성으로 전처리

Table 3. Kinetic and yield parameters for strains grown in *Dahlia pinnata* juice

Kinetic parameter	Species					
	<i>K. fragilis</i> CBS 1555			<i>S. cerevisiae</i> ATCC 4126		
	None	Hydrolyzed Invertase	Hydrolyzed Inulase	None	Hydrolyzed Invertase	Hydrolyzed Inulase
Initial sugar concentration(g/l)	92.8	87.2	110	100	100	100
$\mu_{max}$ (hr)	0.300	0.309	0.314	0.320	0.332	0.339
$Y_{p/s}$ (g EtOH/g sugar)	0.463	0.519	0.551	0.473	0.469	0.567
$Y_{e/s}$ (g dry wt/g sugar)	0.091	0.097	0.098	0.216	0.216	0.181
$Q$ (g/l·hr)	2.06	2.15	2.75	1.42	1.59	3.45
$F$ (%)	84.1	90.3	89.6	67	68.4	89.6
$q_p$ (g/g·hr)	1.403	1.306	1.770	0.833	0.897	1.26
$q_e$ (g/g·hr)	3.158	3.174	2.17	1.303	1.382	1.481

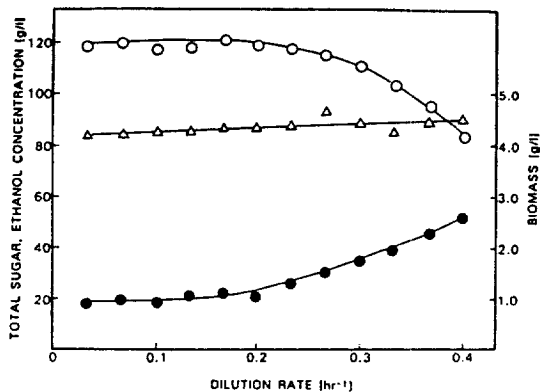


Fig. 7. Total sugar, ethanol concentration, and biomass as a function of dilution rate for immobilized cells of *S. cerevisiae*: ethanol concentration (○-○), total sugar (●-●), and biomass (Δ-Δ).

가수 분해한 후 *S. cerevisiae*에 의한 회분발효에 있어서 시간경과에 따른 총괄 에탄올 생성율( $Q$ ), 에탄올 수율( $Y_{p/s}$ ) 및 발효율( $F$ )이 급격히 증가하여 총 당에 대한 환원당의 질량비가 0.90에서 24시간후에는 0.36으로 감소되었다. 이 변화로써, 가수분해된 발효기질에서는 균주의 비환원당 가수분해 능력보다 환원당의 에탄올 발효능에 크게 좌우되고 있음을 알 수 있었다. Fig. 2-6의 결과에서 얻은 *Dahlia* 괴근 추출액에 대한 *K. fragilis* 및 *S. cerevisiae* 균주에 의한 회분발효에 있어서 속도론적 변수를 Table 3에 각각 비교 정리하였다. 그러므로, 괴근 추출액의 직접 발효에서는 *K. fragilis*가 효율적이고 효소 가수분해 전처리 과정후에는 *S. cerevisiae*가 효과적인 균주라고 할 수 있다.

### 3-3. 고정화 미생물 충전층 반응기에 의한 연속 에탄올 생산

겔 내부에서의 성장 고정화 cell의 배양시간에 따른 최대 반응생성속도에 있어서 시간 경과 함수에 대한 세포수는 고정화 bead 직경  $2.4 \pm 0.1$  mm 크기에 대해 60-72시간에  $9.13 \times 10^7$  cells/bead로 일정하였다. 고정화 세포 농도 및 반응기의 균체밀도는 각각 90.0 g-dry cell/(bead volume), 76.71 g-dry cell/(working bioreactor volume)이고, 액상 체적은 생물반응기 체적 88 ml의 15.7 %이었다. 회석율은 0.10-0.40  $h^{-1}$  범위에서 최대 에탄올 생성을 갖는 최적 회석율로 35일간 시행하였다.

Fig. 7에 *S. cerevisiae*에 의한 회석율에 따른 총 당, 균체량, 그리고 에탄올 농도를 나타내었다. 기질의 초기 총 당농도는 131 g/l였고, 회석율 0.18  $h^{-1}$ 에서 최대 에탄올 농도는 120 g-EtOH/l이었다. 회석율 0.06-0.18  $h^{-1}$

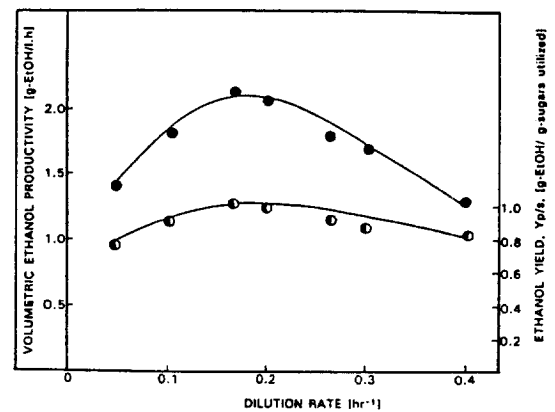


Fig. 8. Volumetric ethanol productivity and ethanol yield as a function of dilution rate for immobilized cells of *S. cerevisiae*: volumetric ethanol productivity (●-●), and ethanol yield (○-○).

범위에서는 총 당농도가 거의 일정하게 유지되었고, 회석율 0.19  $h^{-1}$  이상에서는 환원당농도가 서서히 증가하였다. 연속반응에 의한 에탄올 생산성과 에탄올 수율을 Fig. 8에 나타내었다. 회석율 0.18  $h^{-1}$ 에서 최대 에탄올 비생산속도는 2.15 g-EtOH/l·h이었고, 이 때의 최대 % 총 당소비량과 최대 에탄올 수율은 각각 90.1%, 0.98 g-EtOH/g-sugar이었다. Bead 크기가  $2.4 \pm 0.1$  mm인 것을 사용함으로써 환원당과 생성물(에탄올과  $CO_2$ )의 물질전달이 생물반응기 체적당의 표면적에 대하여 잘 이루어짐으로서 성장 고정화 세포의 담체 표면에 있어서 전환되는 미생물 활성이 증가되었고 bead 내부에서의 환원당, 에탄올,  $CO_2$  등의 물질전달 제한을 최소화시킬 수 있었다. 그리고 본 연구에서의 충전층 반응기에 시행된 회석율은 짧은 체류시간에 비해 반응속도의 효율이 매우 양호함을 알 수 있었다.

고정화 미생물 반응기의 조작 안정성을 결정하기 위하여 일정 회석율 0.18  $h^{-1}$ 로써 35일간 연속조작으로 시행하여 생성된 에탄올 농도, 총 당농도 및 생체량을 Fig. 9에 나타내었다. Fig. 9에 의하면 24일까지는 에탄올 농도가 일정한 값(100-126 g/l)으로 유지되었으나 그 이후로부터는 총 당농도가 천천히 증가함에 따라 에탄올 농도도 완만하게 감소되고 있었다.

기질로서 *Dahlia* 괴근 추출액을 효소 Inulase 6 unit/ml에 전처리하여 사용함으로써 회석율 0.1  $h^{-1}$ 에서 에탄올 수율이 0.92 g-EtOH/g-sugar, 회석율 0.4  $h^{-1}$ 에서는 0.57 g-EtOH/g-sugar인 변화를 보였다.

고정화 미생물 충전층 반응기에 의한 연속 에탄올 생산에 있어서는 회분식에서의 효소 Inulase에 의한 가수분해 처리후 에탄올 비생산속도에서보다 1.7배 높은

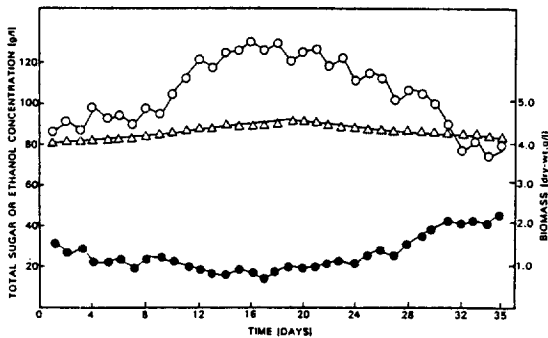


Fig. 9. Total sugar, ethanol concentration, and biomass as a function of time for immobilized cells of *S. cerevisiae*: ethanol concentration (○—○), total sugar (●—●), and biomass (△—△).

효율을 나타내었다. 본 실험결과에서의 이들 자료들에 의하여 *Dahlia* 괴근 추출액으로부터 고정화 *S. cerevisiae*의 충전층 반응기를 사용한 연속 에탄올 생산은 생물반응기의 안정성과 높은 전환율과 생산성을 갖고 있음이 비교 검토되었다.

#### 4. 결 론

(1) *Dahlia pinnata* tuber 추출액의 총 당은 수확기, 품종에 따라 차이가 있으며, 대체로 3월경에 파종하여 11월 초순경에 수확하는 것이 효과적이고, 1단계 추출에서 총 당이 최고 203 g/l까지 포함되어 있으므로 그 효용가치는 클 것으로 기대된다.

(2) *Dahlia pinnata* tuber dry matter의 약 80%가 탄수화물로 구성되어 있으며, 탄수화물의 대부분이 이눌린으로서 효소 Inulase 6 unit/ml에 의해 비환원당의 약 80%를 환원당으로 전환시켰으며, 기질의 농도가 70 g/l까지는 가수분해효과가 일정하게 증가됨을 알 수 있었다.

(3) 효소 Inulase에 의해 가수분해된 기질의 발효에서 *Saccharomyces cerevisiae*가 초기 총 당농도 110 g/l일 때, 발효시작 후 16시간에서 에탄올 7%(v/v)를 생성시켰으며, 발효율(F)이 89.6%로서 당으로부터 에탄올로의 전환에 효율적인 균주임을 알 수 있었고, *Dahlia pinnata* 괴근 추출액을 직접 발효하는 경우에는 *Kluyveromyces fragilis*가, 효소가수분해를 할 경우(총 당에 대한 환원당의 mass ratio : 0.8-1.0)에는 *Saccharomyces cerevisiae*가 효과적이었다.

(4) 고정화 *Saccharomyces cerevisiae* cell(bead 크기,  $2.4 \pm 0.1$  mm)에 대한 충전층 반응기에서의 연속 에탄올 생산에 대한 일정 회석율  $0.18 \text{ h}^{-1}$ 에서 35일간

연속조작으로 시행한 결과, 24일 까지는 에탄올 농도가 100-126 g/l로 유지될 수 있었고, 최대 에탄올 수율은  $0.98 \text{ g-EtOH/g-sugar}$ 이었다.

#### 감 사

이 연구는 1990년도 문교부지원 한국 학술진흥재단의 지방대육성학술연구조성비에 의하여 연구된 것입니다. 연구비지원에 대한 감사를 드립니다.

#### 참고문헌

1. Ferchak, J. D. and Pye, K. E.: *Solar Energy*, **26**, 9 (1981).
2. Margaritis, A., Bajpai, P. and Canell, E.: *Biotech. Letters*, **3**, 595(1981).
3. Margaritis, A. and Bajpai, P.: *Biotech. Bioeng.*, **27**, 273(1985).
4. Margaritis, A. and Bajpai, P.: *Biotech. Bioeng.*, **24**, 1473(1982).
5. Lindeman, L. R. and Rocchiccioli, C.: *Biotech. Bioeng.*, **21**, 1107(1979).
6. 한국동력자원연구소(감수: 이영재): 월간 신·재생 에너지기술동향, **5**(6), 20(1991).
7. 김정희: 바이오에너지기술(제 4회 생물화공 심포지움), 41(1989).
8. Yanovsky, E. and Kingsbury, R. M.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **55**, 3658(1933).
9. Bacon, J. D. and Edelman: *J. Biochem.*, **48**, 114 (1951).
10. Fleming, S. E. and Grool Wassink, J. W. D.: *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **12** (1), 1(1979).
11. Whistler, R. L. and Smart, C. L.: Academic Press Inc. Publishers, N.Y.(1953).
12. Weiner, J.: *J. Inst. Brew.*, **84**, 222(1978).
13. Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 19(1952).
14. Levenspiel, O.: "Chemical Reaction Engineering", Wiley & Sons Inc., New York(1962).
15. Margaritis, A. and Bajpai, P.: *Biotech. Bioeng.*, **24**, 1483(1982).
16. Margaritis, A. and Bajpai, P.: *Process Biochemistry*, **6**, 86(1986).
17. Christensen, L. D. and Fulmer, E. I.: U.S. Patent, 2085, 003(1937).
18. Rosa, M. F. and Novais, J. M.: *Biotech. Bioeng.*, **31**,

- 705(1988).
19. Mariorella, B. L., Blanch, H. W. and Wilke, C. R.: *Biotech. Bioeng.*, **26**, 1003(1984).
20. Holzberg, I., Finn, R. K. and Steinkraus, K. H.: *Biotech. Bioeng.*, **9**, 413(1967).
21. Loewus, F. A.: *Analytical Chemistry*, **24**, 219(1952).
22. Byun, S. M. and Nahm, B. H.: *J. of Food Science*, **43**, 1871(1978).
23. Kim, W. Y. and Byun, S. M.: *Enzyme Microb. Technol.*, **4**, 239(1982).
24. Guiraud, J. P. and Bajon, A. M. et al.: *Enzyme Microb. Technol.*, **5**, 185(1983).
25. Finn, K. and Andrew, J. D.: *Biotech. Bioeng.*, **27**, 1335(1985).