

# 공기 주입 방법에 따른 셀룰로오스계 음식물류 폐기물 유래의 오탄당과 육탄당의 동시발효

정승미\*, 김용진\*\*

## Fermentation of Pentose and Hexose Derived from Cellulosic Food Wastes by Mixed Yeast

Seung-Mi Jeong\* and Yong-Jin Kim\*\*

### Abstract

It is indispensable to increase the conversion rate of a reducing sugars such as pentose and hexose derived from cellulosic wastes for a highly efficient bioethanol fermentation from food wastes. The saccharification liquid from cellulosic substrates such as vegetable food wastes contained lots of hexose like glucose and pentose like xylose. Since *Saccharomyces*-based yeasts could not convert xylose to bioethanol, *Pichia stipitis* which could directly ferment xylose to ethanol was chosen. After selecting *Saccharomyces coreanus* and *P. stipitis*, fermentation characteristics by mixture of two yeasts were investigated. As a result, it was verified the production of ethanol was enhanced by the co-fermentation, although there were somewhat differences between the fermentation characteristics by the aeration methods. Moreover, the consumption of pentose, hexose and disaccharide was obviously observed, and aeration in the process of fermentation seemed to stimulate the activity of *P. stipitis*.

### Key words

Cellulosic wastes(섬유질계 폐기물), Hexose(육탄당), Pentose(오탄당), Fermentation(발효), Yeast(효모)

(접수일 2013. 1. 10, 수정일 2013. 1. 17, 게재확정일 2013. 1. 17)

\* 목포해양대학교 환경·생명공학과 (Department of Environmental Engineering & Biotechnology, Mokpo National Maritime University)  
■ E-mail : ameliajeong@gmail.com ■ Tel : (061)240-7315 ■ Fax : (061)240-7321

\*\* 목포해양대학교 환경·생명공학과 (Department of Environmental Engineering & Biotechnology, Mokpo National Maritime University)  
■ E-mail : yjkim@mmu.ac.kr ■ Tel : (061)240-7315 ■ Fax : (061)240-7321

### Nomenclature

$Y$  : ethanol production, g/L  
 $C_6$  : the concentration of hexose, g/L  
 $C_5$  : the concentration of pentose, g/L  
 $Yeast_1, Yeast_2, O_x$  : dummy variable, -  
 $T$  : fermentation time, hr

### 1. 서론

‘더러운 에너지’로서의 바이오에탄올에 대한 유해성 논란은, 첫째, 식량을 생산하던 드넓은 농토가 바이오연료용 작물 재배로 돌려져, 수요·공급의 단순한 법칙에 따라 식량값은 폭등했다는 점과, 둘째, 바이오연료용 작물 재배를 위해 대규모

모 농지 개간 사업이 벌어져 세계 도처에서 막대한 면적의 산림이 파괴되기 시작했다는 점을 들고 있다<sup>(1)</sup>. 이런 점을 고려하여 1W의 전력을 1초간 소비하는 데 필요한 에너지(1J)를 생산하며 배출되는 이산화탄소량을 계산한 결과, 원유보다 더 많은 이산화탄소를 배출하는 것으로 나타났다<sup>(2)</sup>. 이러한 문제는 바이오에탄올 생산용 ‘에너지작물’과 식량으로 사용하는 ‘식량작물’이 겹치기 때문에 발생하는 것으로, 유기성 폐기물을 바이오에탄올 생산용 원료로 사용할 경우 해소될 수 있는 문제이다. 이러한 폐자원으로 생각할 수 있는 것이 우리나라의 음식물류 폐기물이다. 우리나라의 전체 생활폐기물 발생량에서 음식물류 폐기물이 차지하는 점유율은 1999년도의 25.4%에 비교하여 해마다 점차 감소하는 추세를 보였다. 그러나 2005년 1월 1일부터 음식물류 폐기물 직매립 금지 이후 분리 배출되는 음식물류 폐기물이 증가하고, 국민의 생활수준 향상 및 웰빙문화 확산으로 인한 과일 및 채소류의 소비증가 등으로 2005년부터 음식물류 폐기물 발생량이 대폭 증가한 것으로 나타났다. 음식물류 폐기물에 대한 수거 체계가 갖추어져 있는 우리나라에서 음식물류 폐기물을 바이오에너지의 원료로 사용할 경우, 복잡한 전처리가 필요 없어 경제적이며, 그 동안 축적된 다양한 기술을 확보하고 있다는 장점을 들 수 있다. 또한 음식물류 폐기물을 바이오에탄올 생산 원료로 사용하는 것은 음식물류 폐기물의 안정적이면서 안전한 최종처분 방안의 부재를 감안하면 폐기물의 처분과 함께 에너지도 확보할 수 있다는 점에서 매우 친환경적인 처분 방법이다.

제3차 전국 폐기물 통계조사에 따르면 음식물류 폐기물은 곡류, 채소 및 과일류, 육류가 각각 24 : 68 : 8을 차지하고 있다<sup>(3)</sup>. 음식물류 폐기물 중 많은 부분을 차지하고 있는 채소류와 같은 셀룰로오스계 바이오매스는 전처리 및 당화공정을 통해 여러 당으로 가수분해 되며, 포도당(glucose)과 자일로스(xylose)가 그 주류를 이룬다. 에탄올 발효에 일반적으로 사용되는 *Saccharomyces*계의 효모는 포도당을 기질로 이용하나, 자일로스를 기질로 이용하지는 못하는 점을 고려하면, 에탄올 생산성 및 수율 향상을 위해서는 자일로스와 같은 오탄당의 효과적인 발효가 필수적이다.

자일로스는 세균, 곰팡이 및 효모에 의해 에탄올로 전환가능하나, 세균과 곰팡이는 바람직스럽지 못한 부산물을 생성하거나 에탄올에 대한 내성이 약하기 때문에, Jefferies(1983)은 오탄당이나 육탄당을 에탄올로 전환시키는 미생물로서는

효모가 가장 바람직한 것으로 보고하고 있다<sup>(4)</sup>. 효모 중 *P. stipitis*<sup>(5,6)</sup>, *C. shehatae*<sup>(7)</sup>, *P. tannophilus*<sup>(8,9)</sup> 등이 자일로스를 에탄올로 직접 발효시킬 수 있음을 확인하였지만, 발효속도와 에탄올 수율이 매우 낮은 편이었다. 특히 발효속도가 느린 *P. stipitis*의 발효 효율을 향상시키기 위하여 산소가 필요함은 잘 알려진 사실이다<sup>(10)</sup>.

이에 본 연구에서는 셀룰로오스계 음식물류 폐기물을 바이오에탄올 생산용 원료로 이용할 때 당화 공정의 결과물로서 생산되는 포도당과 자일로스의 효과적인 동시 발효를 위하여, 포도당 발효능이 우수한 *S. coreanus*와 자일로스를 발효하는 *P. stipitis*를 함께 사용하였다. 특히 생육에 산소가 필요한 *P. stipitis*의 효과적인 발효를 유도하기 위하여 공기주입 방법에 따른 에탄올 발효 특성을 검토하였다. 또 기질의 물질수지(mass balance)에 대하여도 검토하여 제시하였다. 결과적으로 포도당뿐 아니라 자일로스를 에탄올로 전환함으로써 최종적인 에탄올 수율 향상을 기대할 수 있을 것으로 판단하였다.

## 2. 실험방법 및 재료

### 2.1 재료 및 실험방법

#### 2.1.1 재료 및 효소당화

셀룰로오스계 음식물류 폐기물로는 M 대학 구내식당에서 수거한 배추, 양배추, 부추를 준비하였으며, 70°C에서 건조시킨 후, 가정용 믹서로 분쇄하였다. 분쇄 후 배추, 양배추, 부추를 4.5:4.5:1 비율로 혼합하여 실험에 사용하였다. 다양

Table 1. Characteristics of enzyme, Celluclast 1.5L used for the saccharification of vegetables wastes

	Celluclast 1,5L
Origin	<i>Trichoderma reesei</i>
Optimal pH	4.5 - 6.0
Optimal temp. (°C)	50 - 60
Characteristics	Cellulase
Activity	700 EGU <sup>a</sup> /g
Remarks	The enzyme catalyses breakdown of cellulose into glucose, cellobiose and higher glucose polymers.

<sup>a</sup> indicate the units of endoglucanase unit.

한 물리·화학적 전처리에서 얻어진 시료에 Celluclast 1.5L (Novozymes Co., Denmark) 0.1mL/g-FW(dry basis)를 주입하여 pH 5, 반응온도 40°C에서 24시간 동안 생물학적 효소당화를 실시하였다<sup>(11)</sup>. Celluclast 1.5L는 *T. reesei* 유래의 cellulase로, 최적의 pH는 4.5 - 6.0이다. Celluclast 1.5L의 특성을 Table 1에 나타냈다.

### 2.1.2 *S. coreanus*와 *P. stipitis*의 효모 특성

에탄올 생산을 위한 발효공정에 사용된 효모 중 하나는 *Saccharomyces*계열로 탁주효모로 알려진 *S. coreanus*을 사용하였다. *S. coreanus*는 포도당, 자당(sucrose), 갈락토오스(galactose), 멜리비오스(melibiose), 라피노오스(raffinose)를 발효하며 맥아당(maltose), 젖당(lactose)는 발효하지 않는 효모이다. 생육 최적온도는 30°C이며, 37°C까지 폭 넓게 생육하고, 생육 최적 pH는 5.5이며, pH 3.0에서 7.0까지 폭 넓은 pH 영역에서도 생육할 수 있다<sup>(12)</sup>.

*P. stipitis* NRRL Y-7124(CBS 5773)은 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms)에서 분양 받았다. 보존배양(stock cultures)는 YM 고체배지에 도말하여 30°C에서 48시간 배양하여, 4°C에 보관하였다. 전배양은 트립시나이즈 플라스크(trypsinizing flask)에 YM 액체배지 50mL를 넣고 한 개의 콜로니를 주입하여 30°C, 100 rpm에서 24시간 배양하여 실험에 이용하였다. *P. stipitis*는 26 - 35°C의 범위에서 최적의 세포수율과 에탄올 생산성을 나타내는데, 탄소원이 포도당일 때 최적온도는 34°C, 자일로스일 때는 25 - 26°C이며, 최적 pH 범위는 4.0 - 7.0이다<sup>(13)</sup>.

### 2.1.3 혼합발효 방법

두 효모(*S. coreanus*와 *P. stipitis*)를 동시에 이용한 혼합 발효실험은 *S. coreanus*를 당화액의 환원당 기준 0.2%(w/w)를 주입하고 *P. stipitis*를 3%(v/v) 주입하였다. 공기주입 방법은 3 가지로 나누어 검토하였다. 첫째 실리스토퍼(sili stopper)만으로 입구를 막아 공기의 이동이 가능하게 한 호기성 조건, 둘째, 발효 시작부터 강제로 공기를 주입한 강제 공기주입 조건, 마지막으로 *S. coreanus*의 혐기성 발효를 고려하여 발효 초기에는 혐기성 상태를 유지하다가 발효 17시간이 경과한 후 공기를 강제 주입한 조건으로 나누어 실시하였다. 공기의 강제 주입량은 0.52vvm(volume per volume per minute)이었으며<sup>(14)</sup>, 에탄올 발효는 30°C에서 100rpm으로 실시하였다.

## 2.2 분석방법

### 2.2.1 셀룰로오스계 음식물류 폐기물의 3 성분분석

폐기물의 3 성분분석은 폐기물 공정시험법에 따라 실시하였다. 수분함량은 105°C에서 건조하여 건조 전후의 무게차를 이용하여 구하였으며, 가연분과 회분은 600±25°C에서 30분간 강열하여 강열 전후의 무게차로 구하였다. 모든 분석은 2회 이상 실시하였으며, 그 평균값으로 결과를 제시하였다.

### 2.2.2 당 분석

#### 1) 환원당 분석

환원당은 DNS 방법으로 측정하였다. DNS 방법은 환원당을 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid)와 로셀 염(rochelle salt)으로 발색하여 흡광도를 측정하는 정량분석법이다. 시료를 원심분리한 후 증류수로 희석시킨다. 희석액 1mL에 DNS 시약 3mL를 첨가하여 90°C에서 5분간 반응시킨 후, 증류수 20mL를 넣어 희석하여 흡광도 540nm에서 측정하였다. 이는 포도당을 표준시료(0.5 - 2.0mg/mL)로 사용하여 동일 조건하에서 발색시켜 조사한 흡광도와 비교하여 유리된 환원당의 양을 결정하는 것이다<sup>(15)</sup>.

#### 2) 포도당 분석

포도당은 아산 제약회사에서 제조된 측정용 시약을 이용하였다. 포도당의 측정원리는 GOD(glucose - oxidase)의 작용에 의하여 포도당은 용액중의 효소 및 물과 반응하여 글루콘산과 과산화수소가 된다. 이 과산화수소가 과산화효소(peroxidase)의 작용에 의하여 페놀(phenol)과 4-아미노안티피린(4-aminoantipyrine)을 산화적으로 축합시켜 키논형 적색 색소를 생성한다. 이 적색색소를 파장 500nm에서 비색 측정하여 검체중의 포도당 양을 구하는 방법이다<sup>(16)</sup>.

#### 3) 육탄당 및 오탄당 분석

육탄당 및 오탄당의 분석은 발효액 일정량을 채취하여 0.45µm 실린지 필터로 여과하여 고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, Agilent 1200 series)로 분석하였다. 육탄당으로는 과당(fructose), 만노스(mannose), 갈락토오스, 오탄당으로는 리보오스(ribose), 자일로스, 아라비노오스(arabinose), 이당류로는 맥아당, 젖당, 자당을 분석하였다. HPLC 분석조건은 Zorbax carbohydrate

(150mm × 4.6mm × 5μm) 칼럼을 이용하였으며, 이동상은 물/아세토니트릴(water/acetonitrile)를 20/80, 유량은 1mL/min, 검출기는 ELSD(Evaporative Light Scattering Detector)를 이용하여, 온도 40°C, 압력 3.6 bar에서 실시하였다.

### 2.2.3 에탄올 분석

에탄올은 가스크로마토그래피-불꽃이온화검출기(Gas Chromatography-Flame Ionization Detector, YL 6100)로 분석하였다. Nukol(30m × 0.25mm × 0.25μm) 칼럼을 사용하였으며, 오븐조건은 110°C에서 185°C까지 8°C/min으로 승온시켰다. 주입구 및 검출기의 온도는 각각 185°C 및 220°C로 하였으며, 운반가스로는 아르곤 가스를 1mL/min으로 사용하였다.

### 2.2.4 효모 균체량

효모 균체량은 분광광도계를 이용하여 600nm에서 OD 값(OD 600)을 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 셀룰로오스계 식물물류 폐기물의 특성

제7차 식품 성분표에 제시하고 있는 배추, 양배추, 부추

**Table 2. Proximate analysis and sugars contents of typical vegetable wastes and mixture of chinese cabbage, cabbage and chinese chive in the ratio of 4.5:4.5:1, respectively (dry-basis)**

	M.C. <sup>a</sup>	Ash	Volatiles	Total sugar	Reducing sugar	Glucose
	[%]			[g/L]		
Chinese cabbage	92.49	1.69	5.82	-	-	-
Cabbage	93.65	0.78	5.56	-	-	-
Chinese chive	92.13	1.17	6.70	-	-	-
Mixed sample <sup>c</sup>	92.98	1.20	5.82	14.91 (373.35) <sup>b</sup>	0.24 (5.93) <sup>b</sup>	0.02 (0.47) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> is a moisture contents.

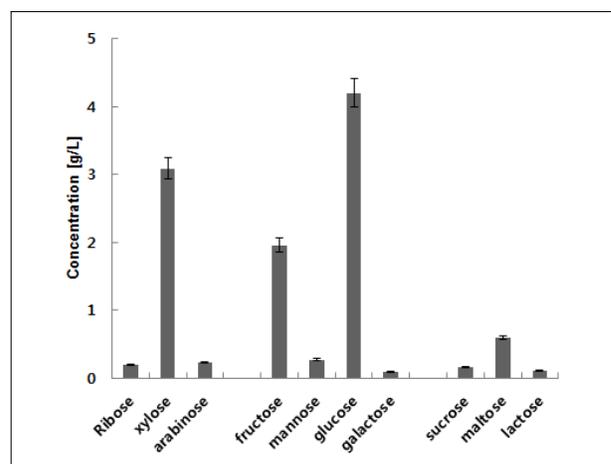
<sup>b</sup> Unit; mg/g.

<sup>c</sup> is mixed of chinese cabbage, cabbage and chinese chive in ratio of 4.5:4.5:1, respectively.

모두 수분함량이 90% 이상이며, 탄수화물은 100g의 가식부 중 3.0 - 5.4g을 차지하고 있다. 섬유는 가식부 100g당 0.6 - 1.1g의 범위이며, 셀룰로오스(cellulose), 헤미셀룰로오스(hemicellulose), 리그닌(lignin)이 포함된 불용성 식이섬유는 탄수화물 함량의 약 50% 정도를 차지하고 있다<sup>(17)</sup>. 본 연구에서 사용한 셀룰로오스계 식물물류 폐기물 및 실험에 사용된 조제시료의 삼성분과 당 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. 배추, 양배추, 부추를 혼합한 조제시료의 총 당은 14.91 g/L(373.35mg/g)이었으며, 환원당 및 포도당은 각각 0.24 및 0.02g/L(5.93 및 0.47mg/g)의 낮은 값을 나타내었다.

### 3.2 당화액의 당 성분 및 함량

물리적, 화학적 전처리 후 효소당화공정을 통해 얻은 채소류 식물물류 폐기물 당화액의 당 성분 및 함량은 고성능액체 크로마토그래피를 이용하여 분석하였으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 당화액의 오탄당 및 육탄당은 각각 3.53 및 6.53g/L 이었으며, 이당류는 0.88g/L 검출되었다. 오탄당 중 리보오스 및 아라비노오스는 미량 존재하였으나, 대부분은 자일노스가 차지하였다. 육탄당은 포도당(4.20g/L)와 과당(1.96g/L)가 대부분을 차지하였다. 또한 환원당에 함유된 오탄당의 비율 또한 32%로 비교적 높았다. 주로 육탄당, 특히 포도당의 발효능이 큰 *S. coreanus*와 함께 오탄당을 발효



**Fig. 1 Sugar types and their concentrations produced from cellulosic wastes by physicochemical pretreatment and enzyme saccharification process. Data points and error bars represent the average and standard deviation, respectively**

하는 *P. stipitis*를 발효 효모로 사용함으로써, 당화액 중 오탄당의 비율이 높은 기질의 에탄올 발효 수율을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 그리고 환원당의 총 농도는 11.13g/L이었으며, 이중 0.37g/L(0.26%)은 정성되지 않았다.

### 3.3.1 호기성 조건에서의 발효 특성

호기성 발효공정에서의 환원당, 포도당, 균체량 OD 600 값 및 생성된 에탄올 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 환원당의 경우, 발효 개시 8시간 이후부터 20시간까지 급격한 감소를 보였으며, 20 - 24 시간 사이에 감소폭이 주춤하면서 이후 발효가 진행되는 동안(72 시간) 환원당의 변화는 거의 없었다. 이러한 경향은 포도당에서도 확인할 수 있었다. 생성되는 에탄올의 경우, 발효 개시 8시간까지는 생성되는 양이 매우 적었으나, 그 후 급격한 농도 증가를 보였고, 24시간에 최대 농도(3.68g/L)를 보인 후 점차 감소하는 모습을 확인할 수 있었다. 이와는 대조적으로 OD값으로 확인되는 효모 균체량은 24시간 이후에도 증가하는 모습을 보여 환원당이나 글루코오스가 기질로 이용되는 것이 아니고 생성된 에탄올이 기질로 이용되고 있을 가능성을 시사하고 있다<sup>(14)</sup>. 동일한 셀룰로오스계 음식물류 폐기물을 기질로 이용한 선행연구에서 *S. coreanus*에 의한 발효는 24시간이 경과한 후에는 진행되지 않은 결과로부터<sup>(18)</sup>, *S. coreanus*에 의한 발효가 끝났다고 판단되는 발효 개시 24시간 이후에 환원당의 농도 변화가 거의 없었다는

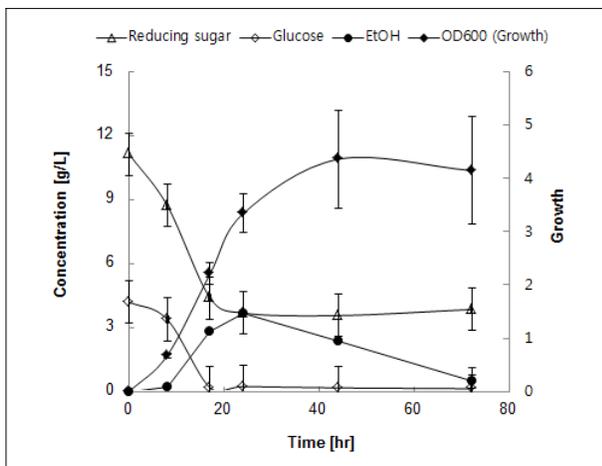


Fig. 2 Aerobic ethanol fermentation of saccharified liquid from cellulosic wastes by *S. coreanus* of 0.2% (w/w) and *P. stipitis* of 3% (v/v). Fermentation was carried out at 30°C and 100 rpm. Data points and error bars represent the average and standard deviation, respectively

것은 발효 시간이 긴 *P. stipitis*에 의한 발효가 없었다는 것을 알 수 있다. 이는 생육에 공기가 필요한 *P. stipitis*의 성장 특성과 밀접한 관계가 있으며, 따라서 *P. stipitis*를 이용할 경우 적절한 공기 주입이 필요할 것으로 판단된다.

### 3.3.2 강제 공기주입 조건에서의 발효 특성

강제로 공기를 주입하면서 실시한 발효공정에서의 환원당, 포도당, 균체량 OD 600 값 및 생성된 에탄올 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 환원당의 경우, 발효 개시 8시간 이후부터 20시간까지 급격한 감소를 보였으며, 20 - 24 시간 사이에 감소폭이 주춤하였으나 지속적인 환원당의 감소를 확인할 수 있었다. 이러한 경향은 포도당에서도 동일하게 확인할 수 있었으며, 이는 전술한 호기성 조건에서의 발효와는 차이를 보이고 있었다. 생성되는 에탄올의 경우, 발효 개시 8시간까지 생성되는 양이 거의 없었으나, 그 후 급격한 농도 증가를 보였고, 24시간에 최대 농도(2.24g/L)를 보인 후 점차 감소하는 모습을 확인할 수 있었다. 이와는 대조적으로 OD값으로 확인되는 효모 균체량은 24시간 이후에도 지속적으로 증가하는 모습을 보여 환원당이나 포도당뿐만 아니라 생성된 에탄올도 기질로 이용되고 있을 가능성을 보였다. 특히 *S. coreanus*에 의한 발효가 끝났다고 판단되는 발효 개시 24시간 이후에도 환원당의 농도가 감소하고 있다는 것은 발효 시간이 긴 *P. stipitis*의 성장도 이루어졌음을 의미한다.

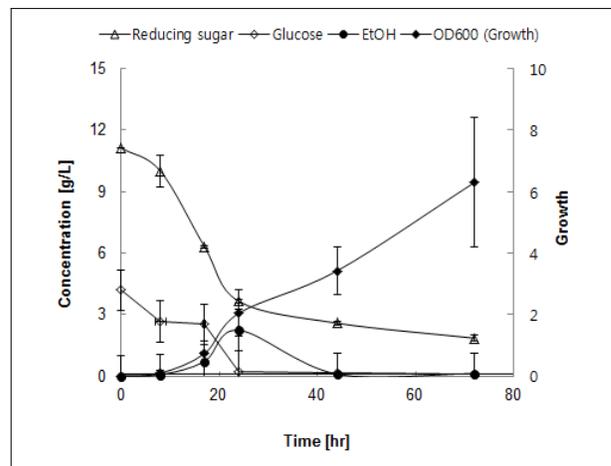
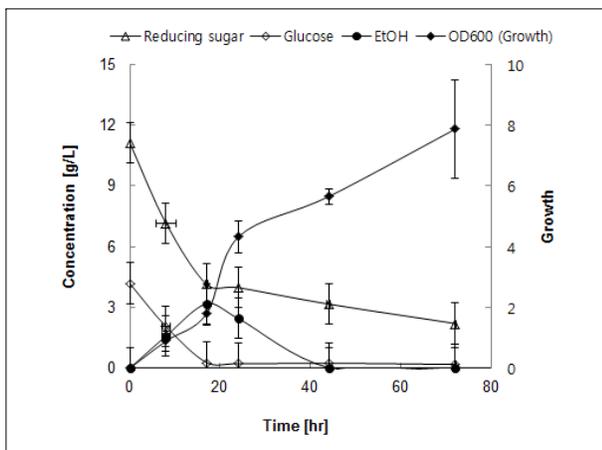


Fig. 3 Forced aerobic ethanol fermentation of saccharified liquid from cellulosic wastes by *S. coreanus* of 0.2% (w/w) and *P. stipitis* of 3% (v/v). Fermentation was carried out at 30°C and 100 rpm. Data points and error bars represent the average and standard deviation, respectively

### 3.3.3 혐기성 - 강제 공기주입 조건에서의 발효 특성

혐기성 조건에 이어 강제로 공기를 주입한 발효공정에서의 환원당, 포도당, 균체량 OD 600 값 및 생성된 에탄올 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 환원당과 포도당의 감소 경향, 에탄올 생성 및 OD값의 변화는 전술한 “강제 공기 주입 조건에서의 발효 특성”과 거의 동일한 모습을 보였다. 특히 생성되는 에탄올의 경우, 발효 개시 24시간에 최대 농도(3.19g/L)를 보인 후 점차 감소하는 모습을 확인할 수 있었다.

동일한 셀룰로오스계 음식물류 폐기물을 기질로 이용한 선행연구의 결과로 제시한 효모의 단독발효에서 24시간 후 생성된 에탄올은 *S. coreanus*에 의한 혐기성 발효에서 2.88 g/L, *P. stipitis*에 의한 호기성 발효에서 0.75g/L, *P. stipitis*에 의한 강제 공기주입 발효에서 2.10g/L로<sup>(18)</sup>, *S. coreanus* 및 *P. stipitis*의 혼합효모에 의한 에탄올 발효에서 효모의 단독발효보다 에탄올 생성이 향상되었음을 확인할 수 있었다. 또한 *S. coreanus*에 의한 발효에서는 관찰할 수 없었던 자일로스의 소모를 *P. stipitis*를 함께 주입한 혼합발효에서는 확인할 수 있었다. 이 결과로부터 *S. coreanus* 및 *P. stipitis*를 함께 사용한 혼합발효를 통해 셀룰로오스계 음식물류 폐기물로부터 유래된 자일로스의 에탄올로의 전환으로 수율향상에 도움을 줄 것으로 판단된다.



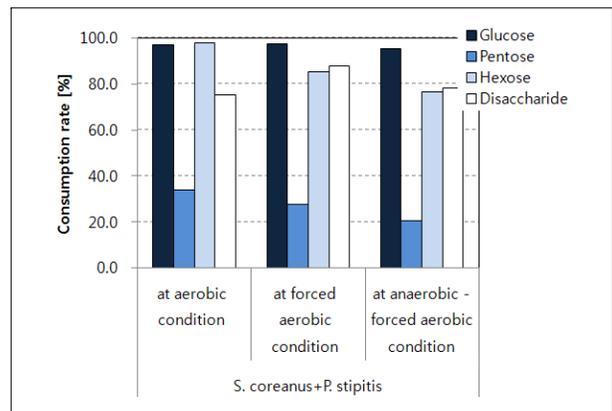
**Fig. 4 Anaerobic/forced aerobic consecutive ethanol fermentation of saccharified liquid from cellulosic wastes by *S. coreanus* of 0.2% (w/w) and *P. stipitis* of 3% (v/v). Fermentation was carried out at 30°C, 100 rpm and aeration from 17 hrs. Data points and error bars represent the average and standard deviation, respectively**

### 3.3.4 탄소원의 물질수지

셀룰로오스계 음식물류 폐기물 당화액을 대상으로 *S. coreanus*와 *P. stipitis*의 혼합효모를 이용한 혐기성 및 강제 공기주입의 순차적 발효 후의 당의 소모율(=소모량/초기 양×100)을 Fig. 5에 나타내었다. 초기 당화액의 오탄당, 육탄당, 포도당은 각각 3.53, 6.53, 4.20g/L이었으며, 이당류는 0.88g/L이었다.

호기성 발효(공기 미주입 발효)에서 육탄당과 포도당은 각각 98 및 97%, 오탄당은 34%, 이탄당은 75%가 소비되었다. 강제 공기주입 발효에서는 포도당이 약 98% 소모되었으나, 육탄당과 오탄당의 소모율은 각각 약 85%와 28%로 호기성 발효에 비교하여 다소 낮은 소모율을 보였으나, 이당류의 소모율은 약 88%로 호기성 발효 보다 높은 소모율을 보였다. 그리고 혐기성 및 강제 공기주입 발효에서 육탄당, 오탄당, 포도당 및 이당류의 모든 소모율이 전술한 호기성 발효와 강제 공기주입 발효에서의 소모율보다 낮았다.

전술한 바와 같이, 생산된 에탄올 농도와 효모 균체량, 그리고 당의 소모율을 비교해보면, 특정한 경향을 찾을 수 없다. 에탄올의 농도가 가장 높게 나타난 호기성 발효에서는 타 공기 주입 방법에 의한 발효에서보다 당 소모율이 높게 나타났으나, 균체량은 낮게 측정되었다. 이는 소모된 당의 에탄올로의 전환율이 높음을 의미한다. 그러나 강제 공기주입에 의한 발효에서는 당 소모율이 비교적 높으나 생성된 에탄올은 가장 낮았다. 이는 소모된 당이 에탄올 생성과 함께 균체량



**Fig. 5 Consumption rate of sugars after ethanol fermentation process by *P. stipitis*, *S. coreanus* and two yeast mixture. Mixed yeast were made with *S. coreanus* of 0.2% (w/w) and *P. stipitis* of 3% (v/v). Fermentation was carried out at 30°C, 100 rpm for 72 hrs**

생산에 사용되었고, 이런 경향은 혐기성 - 강제 공기주입 발효에서 가장 두드러지게 났다고 판단되나, 생성된 에탄올 농도와는 상반되는 결과를 보인다. 따라서 에탄올 생성에 관여하는 생성인자와 에탄올 농도와의 상관성을 통계학적으로 검토할 필요가 있어 보인다.

### 3.3.5 혼합효모 발효에 영향을 미치는 인자와 에탄올 생성량과의 관계

육탄당 및 오탄당이 혼합된 바이오매스로부터 에탄올 생성량에 대하여 주입한 효모 종류, 공기주입 여부 및 발효시간에 따라 어느 정도 설명이 가능한지 알아보기 위해 SPSS(version 10.0)를 이용하여 중회귀분석을 실시하였다. 효모 종류 및 공기주입은 터미변수로 변환하였다. 중회귀분석을 통해 얻은 회귀식은 식 (1)과 같다.

$$Y = 6.544 + 0.330C_6 + 0.183C_5 - 20.688Yeast_1 - 15.018Yeast_2 + 16.403O_x + 0.059T \quad (1)$$

이 회귀식의 기여율( $R^2$ )은 0.817이었으며 자유도 조정된 기여율( $R^{*2}$ )은 0.725, F의 유의확률은 0.001로 통계적으로 유의하였다. 분석에 사용된 변수들 중 공현도를 살펴보기 위하여 편회귀계수  $t$ 값을 분석한 결과, 육탄당의 농도가 다른 변수들 보다 공현도가 높았다. 그 다음으로 효모 종류 및 공기주입 여부의 공현도가 유사한 정도로 나타났다. 잔차의 정규분포 가정을 검증하기 위해 관측 누적확률과 기대 누적확률 사이의 산포도를 작성하여 두 개의 누적확률 분포를 검토한 결과, 표준화된 잔차들이 정규분포 선상에 가까이 분포되어 있었다. 따라서 이 결과로부터 앞서 언급한 회귀식의 예측 정도가 높다고 판단할 수 있었다.

## 4. 결론

본 연구에서는 셀룰로오스계 식물성 폐기물을 바이오에탄올 생산용 원료로 이용할 때, 포도당과 자일로스의 효과적인 동시 발효를 위하여 *S. coreanus*와 *P. stipitis*를 발효 효모로 동시에 사용하였다. 특히 생육에 산소가 필요한 *P. stipitis*의 효과적인 발효를 유도하기 위하여 공기주입 방법

에 따른 에탄올 발효 특성 및 탄소원의 물질수지에 대하여 검토하여 제시하였다. 공기주입 유무와 공기주입 방법에 따라 다소의 차이를 확인할 수 있었으나, 에탄올 발효 경향에는 큰 차이가 없었다. 또, *S. coreanus* 및 *P. stipitis*의 혼합효모에 의한 에탄올 발효에서 효모의 단독발효보다 에탄올 생성이 향상되었음을 확인할 수 있었으며, 결과적으로 포도당뿐 아니라 자이로스를 에탄올로 전환함으로써 최종적인 에탄올 수율 향상을 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.

## References

- [1] 정인환, 2012, "더러운 에너지, 바이오연료", 한겨레21, 2012. 02.13 제897호.
- [2] Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R. A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D., Yu, T. H., 2008, "Use of U.S. Croplands for Biofuels Increases Greenhouse Gases Through Emissions from Land-Use Change", Science, Vol. 319, No. 5867, pp. 1238-1240.
- [3] 환경부, 2007, "제3차(2006~2007년) 전국 폐기물 통계조사".
- [4] Jeffries, T. W., 1983, "Utilization of xylose by bacteria, Yeasts and fungi", Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, Vol. 27, pp. 1-32.
- [5] Slininger, P. J., Bothast, R. J., Okos, M. R., Ladish, M. R., 1985, "Comparative evaluation of ethanol production by xylose fermenting yeasts presented high xylose concentration", Biotechnol. Lett., Vol. 7, pp. 431-436.
- [6] Dellweg, H., Rizzi, M., Methner, H., Debus, D., 1984, "Xylose fermentation by yeasts, 3. Composition of *Pachysolen tannophilus* and *Pichia stipitis*", Biotechnol. Lett., Vol. 6, pp. 395-400.
- [7] du Preez, J. C., van der Walt, J. P., 1983, "Fermentation of D-xylose to ethanol by a strain of *Candida tropicalis*", Biotechnol. Lett., Vol. 5, pp. 357-362.
- [8] Schneider, H., Wang, P. Y., Chan, Y. K., Maleszka, R., 1981, "Conversion of D-xylose into ethanol by the yeast *Pachysolen tannophilus*", Biotechnol. Lett., Vol. 3, pp. 89-92.
- [9] Slininger, P. J., Bothast, R. J., Van Cauwenberge J. E., Kurtzman, C. P., 1982, "Conversion of D-xylose to ethanol by the *Pachysolen tannophilus*", Biotechnol. Bioeng., Vol. 24, pp. 371-384.
- [10] Laplace, J. M., Delgenes, J. P., Moletta, R., Navarro, J.

- M., 1991, "Alcoholic fermentation of glucose and xylose by *Pichia stipitis*, *Candida shehatae*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis*: oxygen requirement as a key factor", Applied Microbiology Biotechnology, Vol. 36, pp. 158-162.
- [11] 진길선, 2011, "바이오에탄올 생산을 위한 섬유소계 바이오매스의 고효율 당화", 목포해양대학교 석사학위논문.
- [12] 유대식, 2003, "*Saccharomyces coreanus* IFO 1833의 생리학적 특성", 기초과학연구논집 (계명대학교), Vol. 22, pp. 47-50.
- [13] Slininger, P. J., Bothast, R. J., Ladisch, M. R., Okos, M. R., 1990, "Optimum pH and temperature conditions for xylose fermentation by *Pichia stipitis*", Biotechnology and Bioengineering, Vol. 35, pp. 727-731.
- [14] Jeong, S.-M., Kim, Y.-J., Lee, D.-H., 2012, "Ethanol production by co-fermentation of hexose and pentose from food wastes using *Saccharomyces coreanus* and *Pichia stipitis*", Korean Journal of Chemical Engineering, Vol. 29, No. 8, pp. 1038-1043.
- [15] Miller, G. L., 1959, "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar", Analytical Chemistry, Vol. 31, pp. 426-428.
- [16] 아산제약, 2012, "글루코오스 분석용 키트 사용설명서", <http://www.asanpharm.co.kr/> (2012.11.26. 현재).
- [17] 농촌진흥청, 2010, "농식품 종합정보 시스템 > 식품영양 기능성 정보 > PDF 파일 다운로드 > 식품성분표 제7개정판 1권.
- [18] 정승미, 2011, "*Saccharomyces coreanus*와 *Pichia stipitis*를 이용한 음식물류 폐기물 기원 육탄당 및 오탄당의 에탄올 발효", 서울시립대학교 공학박사학위논문.

## 정 승 미



1996년 전남대학교 환경공학과 공학사  
 1998년 서울시립대학교 환경공학과 공학석사  
 2011년 서울시립대학교 환경공학과 공학박사

현재 목포해양대학교 환경·생명공학과 폐기물에너지화연구실연구원  
 (E-mail : ameliajeong@gmail.com)

## 김 용 진



1993년 서울시립대학교 환경공학과 공학사  
 1995년 서울시립대학교 환경공학과 공학석사  
 2000년 서울시립대학교 환경공학과 공학박사

현재 목포해양대학교 환경·생명공학과 부교수  
 (E-mail : yjkim@mmu.ac.kr)