

*S. viridosporus*에 의한 갈탄의 액화 연구

이현호, 신헌재, 양지원
한국과학기술원 화학공학과

Liquefaction of lignite by *S. viridosporus*

Hyun Ho Lee, Hyun Jae Shin, Ji-Won Yang
Department of Chemical Engineering, KAIST

개요

미생물을 이용한 석탄의 이용공정으로서 최근 관심을 모으고 있는 연구로는 미생물에 의한 석탄의 가스화와 미생물에 의한 탈황 공정의 개발, 그리고 미생물을 이용한 석탄의 액화 연구 등이 있다. 이 중에서 석유의 대체에너지원으로서 미생물에 의한 석탄의 액화 연구는, 석탄 중에서도 낮은 발열량 때문에 실질적인 사용이 제한되어온 갈탄(lignite)의 이용가능성 증대와 함께 최근 활발히 연구되고 있다. 미생물을 이용한 석탄의 액화 연구는 리그닌을 분해하는 곰팡이 및 박테리아가 리그닌에서 유래된 석탄도 분해할 것이라는 생각에서 처음 시도되었는데 주로 저급석탄인 갈탄(lignite)과 leonardite를 대상으로 연구되며, 이 공정은 물리 화학적 석탄 액화에 비하여 상대적으로 적은 에너지 사용과 단순하고 값이 싼 공정이라는 장점을 가지고 있다. 미생물에 의한 석탄 액화 현상은 1982년 Cohen과 Gabriele에 의해 정식으로 보고되었고[1], 그 후 여러 연구자들에 의하여 여러 종류의 bacteria와 fungi를 이용한 석탄액화 연구가 진행되었다. 일반적으로 석탄은 액화 반응 전에 석탄의 산소 함유량을 높여 미생물이 석탄을 공격하기 쉽게 만들기 위해 석탄 전처리 과정을 거치게 된다. 효과적인 전처리제로는 8M HNO₃가 알려져 있다. 지금까지의 연구결과는 다음과 같다. *Streptomyces sentonii*를 이용하여 질산으로 사전에 산화된 갈탄의 액화에서는 배양액을 원심 분리한 culture supernatant가 열에 안정하고 분자량이 1,000-10,000으로 효소가 활성자리를 가지기 위한 최소의 분자량에 미달하며, protease로 처리해도 거의 활성을 잃지 않아 석탄을 액화하는 물질이 nonenzymatic하게 반응에 참여함을 보였고, 이 물질은 polypeptide나 polyamine류의 화합물일 것으로 추측하였다[2]. *Polyporus versicolor*의 배양액을 원심분리하여 얻은 액으로 석탄을 액화시켰을 때 석탄 액화의 속도와 정도는 배양시간, 석탄 입자의 크기, 여과된 배양액의 pH, 여과액속에 포함된 단백질의 유무에 의존함을 보였고, 액화 속도는 산에 의한 가수분해에 의해 여과액속의 단백질이 변성된 경우 급격히 감소됨이 보고되었다[3]. *Streptomyces*로 여러 가지 석탄을 액화한 결과 액화석탄은 고체석탄에 비해 산소, 질소, 황과 ash는 증가한 반면 탄소와 수소는 감소하고, 액화되지 않은 석탄의 조성은 크게 변하지 않았다고 보고되었다. 또한, 미생물이 석탄을 액화하면서 배양액의 pH가 증가하는 현상을 보여, 석탄을 액화하는 물질이 알칼리 계통의 물질일 것으로 보고되었다[4]. 최근에는 *Trametes versicolor*에서 얻은 석탄을 액화하는 물질(coal-solubilizing agent, CSA)을 분리하여 특성을 알아보려는 시도가 있었는데 이들은 이 물질이 ammonium oxalate monohydrate라고 보고하였다[5]. 그러나 아직까지 CSA를 밝혀내기 위한 metabolic products의 분석이나, 회수에는 성공

하지 못하였다. 석탄을 액화시키는 연구에는 많은 분야의 광범위한 지식이 필요한데 이에선 석탄의 구조와 반응성에 대한 지식과 석탄을 액화시키는 미생물의 선정, 그리고 미생물의 내부대사에 관한 정보의 확립과 공정을 개발하기 위한 적절한 반응기의 연구가 수반되어야 한다. 본 연구에서는 *S. viridosporus*를 이용하여 갈탄의 액화능 향상을 위한 연구와 석탄을 액화하는 물질(coal solubilizing agent, CSA)을 규명하기 위한 실험을 하였다.

실험

실험에 사용된 시료 석탄은 국내에 보급되는 호주산 갈탄(공급:(주)삼천리 갈탄)을 사용하였다. 실험에 사용한 갈탄은 hammer crusher로 일차 분쇄후 ball mill로 분쇄하여 표준 shieve를 사용하여 20mesh(0.84mm) 통과 24mesh(0.707) 잔류분을 사용하였다. 석탄의 가용화 실험에 사용된 균주는 bacteria 계통의 *Streptomyces viridosporus* ATCC 39115 이며, 이는 30°C에서 yeast-malt extract agar와 yeast malt broth를 성장배지로 사용하였다. 석탄의 전처리는 8M HNO₃에 석탄을 넣어서 12시간 동안 방치한 후 석탄을 씻은 용액이 pH 6이 될 때까지 세척한 후 freeze-drier에서 건조하여 사용하였다. 플라스크 배지에서는 균주의 성장에 대한 석탄의 최적 주입시기를 조사하기 위하여 미생물을 접종한 뒤 각각 시기를 달리하여 석탄을 주입하여 액화능을 조사하였으며, 액화능에 영향을 미치는 요소에 대한 실험으로 미생물의 성장 배지에 탄소원(1%) 6종과 질소원(0.5%) 6종, 그리고 금속이온(5mmol dm⁻³) 6종을 추가로 넣었을 때 석탄의 액화능 변화를 측정하였다. 그리고, 효소 반응 여부를 조사하기 위하여, 플라스크 배양에서 키운 미생물을 centrifuge(15,000rpm, 15min)를 통하여, 상층액을 분리한 다음, 이를 각각 100ml씩 나눈 후 1개는 control로 잡고, 1개는 auto-clave에 넣어서 열처리를 하고, 나머지 1개는 protease로 처리하였다. 그 후에 3개의 플라스크에 석탄을 각각 1g씩을 집어넣어서 액화능을 조사하였다. 마지막으로 발효기 실험에서는 액화능 향상을 위한 실험으로 통기량 변화와 석탄의 접종 시기, 그리고 플라스크 실험에서 밝혀진 첨가제를 추가로 넣었을 때의 액화능 변화를 조사하였다.

결과 및 토론

석탄의 액화능은 UV spectrophotometer를 사용하여 450nm에서 측정하였다. 플라스크 배양에서의 최고 석탄 액화능은 62%(w/w)였다. 그림 1은 *S. viridosporus*의 성장중 탄소원의 변화와 최적 석탄 주입 시기 결정을 위한 실험결과이다. 여기서는 *S. viridosporus*가 탄소원이 거의 소모되고 난 후인 접종후 8일 이후에 석탄을 주입하는 것이 좋은데, 이는 탄소원 소비와 액화능이 밀접한 관계에 있음을 알 수 있다. 미생물의 액화능에 영향을 미치는 요소를 정하기 위하여 6종의 탄소원(1%), 6종의 질소원(0.5%), 6종의 금속이온(5mmol dm⁻³)을 추가로 넣었을 때의 실험 결과가 표 1에 나타나 있다. *S. viridosporus*는 탄소원을 추가로 넣었을 때의 영향은 별로 받지 않으나, 질소원의 영향은 매우 큰 것으로 나타났다. *S. viridosporus*는 urea를 추가로 넣었을 때 약 17%의 액화능 향상 보임을 알 수 있다. 또한 *S. viridosporus*는 금속이온에 대한 액화능의 변화가 별로 없음을 알 수 있다. 효소 반응 여부를 위한 실험에 대한 결과가 표 2에 나타나 있다. *S. viridosporus*는 접종후 9일간 배양하여 탄소원이 거의 고갈된 상태에서 배양액을 원심분리를 통하여 미생물을 제거한 다음 석탄을 넣어서 실험을 진행하였다. *S. viridosporus*는 접종후 9일간 배양하여 탄소원이 거의 고갈된 상태에서

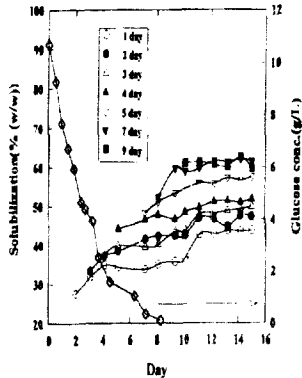


그림 1. 석탄의 접종 시기가 액화능에 미치는 영향

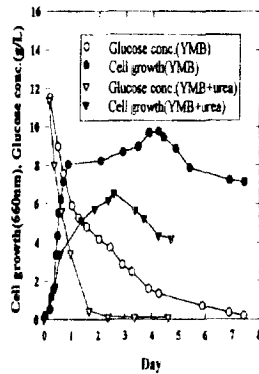


그림 2. Urea가 미생물의 성장에 미치는 영향

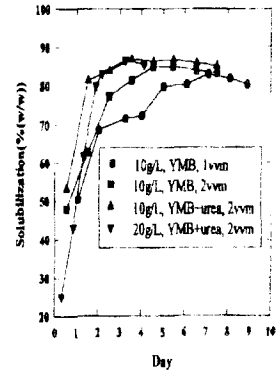


그림 3. 통기량, urea 첨가, 석탄양 증가에 따른 액화능의 변화

표 1 첨가물이 *S. viridosporus*의 액화능에 미치는 영향

탄소원 (1wt%)	액화율	질소원 (0.5wt%)	액화율	금속이온 (5mmol dm ⁻³)	액화율
Control	50.0	Control	50.0	Control	50.0
Glucose	50.6	Urea	67.4	MgSO ₄	55.5
Lactose	21.8	(NH ₄) ₂ SO ₄	55.6	CuSO ₄	55.3
Sucrose	20.7	NH ₄ Cl	51.2	MnCl ₂	50.8
Maltose	15.2	Yeast-extract	32.1	ZnSO ₄	50.2
Cellulose	16.5	Peptone	25.4	CaCl ₂	49.6
Fructose	12.5	Tryptone	23.9	FeSO ₄	48.2

표 2 *S. viridosporus*에 의한 외부비물의 효소 여부 실험

	control	열처리	trypsin
액화율(wt%)	55	45	42

배양액을 원심분리를 통하여 미생물을 제거한 다음 석탄을 넣어서 실험을 진행하였다. 표 2에 나타났듯이 protease의 처리나 열처리에 대하여 액화능은 약 20%정도 감소함을 알 수 있다. 여기서 석탄 액화에 기여하는 물질의 80%는 nonenzymatic reaction임을 알 수 있다. 이 결과와 더불어 *S. viridosporus*가 탄소원이 모두 소모되고 난 뒤에 액화능이 향상되는 것을 고려하면, 미생물에 의한 석탄의 액화 반응은 secondary metabolite에 의한 nonenzymatic reaction임을 알 수 있다. 발효기에서 YM 배지에 urea(0.5%(w/vol))의 첨가 여부에 따른 *S. viridosporus*의 성장이 그림 2에 나타나 있다. 여기서 urea를 첨가 하였을 때 탄소원의 감소속도는 매우 빠른 반면 미생물의 성장은 YM 배지만 있을 때 보다 오히려 낮게 나타남을 알 수 있다. 이는 일반적으로 urea가 cell에 독성을 나타내는데 *S. viridosporus*가 urea의 독성에 대하여 cell을 유지시키기 위하여 에너지원으로서 탄소원을 빨리 소비하는 것으로 보이며, 이에 대한 실험이 좀더 이루어져야 할 것으로 사료된다. 여러 가지 실험 변수에 대한 석탄 액화능의 변화가 그림 3에 나타나 있다. 통기량을 바꾸면서 실험을 진행하였을 때는 최대 액

화능에 이르는 기간이 통기량이 1vvm일 경우에는 석탄 주입후 7일, 통기량이 2vvm 일 경우에는 4.5일 인 것을 알 수 있어 2vvm이 액화능 향상에 훨씬 좋음을 알 수 있었다. 또한 YM 배지와 YM 배지에 urea를 혼합한 경우에는 urea를 첨가 하였을 때 액화능을 최고 85%로 YM배지만 있을 때보다는 약간 높게 나타나지만, 그 보다는 액화속도를 상당히 빠르게 함을 알 수 있다. 이는 urea의 첨가에 따른 미생물의 빠른 탄소원 소비 속도 때문으로 사료된다. 또한 최고의 액화능에 이르는 기간도 YM 배지만 있을 때의 4.5일에 비하여 urea가 첨가되었을 때는 3.5일로 줄어듦을 알 수 있었다. 또한 그림 3에서는 YM(0.5% urea) 배지에 20g/L의 석탄을 주입한 경우에는 석탄을 10g/L로 주입하였을 때에 비하여 초기 액화 속도가 상대적으로 느림을 알 수 있다. 이는 초기에 많이 주입된 석탄이 미생물의 액화 작용에 어떤 저해 작용을 하는 것으로 보인다. 석탄과 전처리 석탄, 그리고 액화 석탄을 분석한 결과가 표 3에 나타나 있다.

표 3 석탄의 성분 분석

	원소분석(wt%)					발열량 (kg/kcal)
	C	H	N	S	O	
석탄	55.10	5.46	0.51	0.20	38.73	5080
전처리 석탄	51.94	3.92	2.88	0.06	41.2	4600
액화 석탄	47.27	4.04	4.64	0.21	43.84	4340

여기서 석탄은 처리단계를 거칠수록 석탄의 산소함량이 증가하는데 이는 미생물에 의한 석탄의 액화가 계속적인 산화과정을 거친다는 것을 증명하며, 전처리 석탄과 액화 석탄에서 N의 증가는 각각 전처리제인 질산의 영향과, urea의 영향인 것으로 보여진다. 그리고 발열량은 원래 석탄보다 약 14.6% 정도가 감소됨을 알 수 있었다. 지금까지 *S. viridosporus*에 의한 석탄의 액화에 관하여 알아보았다. 아직 연구하여야 할 분야가 많이 남아 있지만, 앞으로의 석유 대체원으로서 가능성이 많을 것으로 기대된다. 마지막으로 앞으로의 대체에너지는 환경오염 문제를 심각하게 고려하여야 하는데 기존의 액화 공정들이 매우 복잡하고 비싼 장치를 요구하였으나 미생물에 의한 석탄의 액화 및 불순물의 제거는 매우 경제적이고 액화에서 불순물 제거로의 연속 공정이 가능하므로 장기적인 관점에서는 미생물에 의한 석탄 액화가 훨씬 유리하리라고 판단된다. 한편 액화된 석탄은 대체에너지로서의 목적외에 액화된 석탄을 이용한 화학제품의 원료나 다른 여러 가지 석유의 대체 물질로서의 역할도 훌륭히 수행할 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Cohen, M.S. and Gabriele, P.D.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 23(1982).
2. Strandberg, G.W. and Lewis, S.N.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **18**, 355 (1988).
3. Cohen, M.S.: Idaho National Engineering Laboratory and U.S. Department of Energy, Washington, D.C., (1987).
4. Donald L. Wise: "Bioprocessing and Biotreatment of Coal", Marcell Dekker, 1-322(1990)
5. Cohen, M.S., Feldman K.A., Brown, C.S., Gray E.T.: *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 3258(1990)