

고정화된 *Gordonia nitida* CYKS1을 이용한 디젤 탈황 및 탄소원으로서의 디젤 이용

이인수, 배희성, 류희욱\*, 조경숙\*\*, 장용근  
 한국과학기술원 생명화학공학과, 숭실대학교 환경화학공학부\*, 이화여자대학교  
 환경학과\*\*

Diesel Desulfurization by Immobilized *Gordonia nitida* CYKS1 and Diesel Utilization as Carbon Source

In Su Lee, Hee-Sung Bae, Hee-Wook Ryu\*, Kyung-Suk Cho\*\*, Yong Keun Chang  
 Dept. of chemical and biomolecular eng. in KAIST, Dept. of environmental chemical eng. in  
 sung-sil university\*, Dept. of Environment in e-wha women's university\*\*

## 서론

디젤은 황화합물을 포함하고 있으며, 이러한 황화합물들은 연소되면서 이산화황을 생산하게 되어 대기오염을 일으키게 된다. 따라서, 원유를 정제하는 과정에 탈황공정이 필요하며, 상용화된 공정으로는 수소첨가탈황공정이 있다. 그러나, 수소첨가탈황공정은 장치비와 운전비가 높고, dibenzphtiohenes(DBTs) 이상의 복잡한 구조의 황화합물을 제거하는데 어려움이 있어, 점차 강화되어가는 환경규제치를 만족시킬 수 없는 상황이다. 이에 반해 미생물탈황방법은 상온·상압에서 운전되므로 장치비 및 운전비가 낮으며 안전하다.

미생물탈황에 이용되는 미생물들은 다음과 같은 특성을 가져야 한다. 첫째, 디젤에 들어 있는 다양한 황화합물들로부터 황을 제거할 수 있어야 한다. 둘째, 황만을 특이적으로 제거하여, 디젤의 연료손실이 없어야 한다. DBT는 미생물의 탈황능을 확인하는데 이용되는 대표적인 황화합물이다. DBT로부터 황만을 특이적으로 제거하는 미생물로는 *Rhodococcus rhodocrous* ISTS8, *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1, *Rhodococcus* sp. strain P32C1, *Gordonia* sp. CYKS1, *Nocardia* sp. CYKS2, *Paenibacillus* sp. strain A-11, *Mycobacterium phlei* WU-F1, *Agrobacterium* MC501등으로 주로 호기성 미생물이다.

그러나, 미생물이 개발되어 디젤의 탈황에 이용되기 위해서는 미생물에 따라 적합한 생물 반응기가 개발되어야 한다. Kaufman 등은 반응기내로 유입되는 원유의 입자를 작게 해주기 위해 Electro-Spray reactor를 개발하여, 물질전달을 용이하게 하였다. Naito 등은 *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1을 resin polymer에 고정화하여 DBT를 탈황하고, 고정화된 미생물을 반복적으로 재사용할 수 있었다. 또한 미생물탈황공정과 더불어 Yu 등은 탈황반응이 종료된 후, 미생물과 배지, 유류를 분리하기위한 방법으로 cylone을 이용하였다. 이 실험에서 본 연구진은 미생물탈황용 고정화반응기를 제작하고, *Gordonia nitida* CYKS1을 고정화한 반응기의 디젤 탈황성능을 검토하였다.

## 재료 및 방법

## 균주

DBT 탈황능력을 가지고 있는 *Gordonia nitida* CYKS1을 이용하였다. CYKS1은 30°C, pH 7.0, 230 rpm에서 3일간 배양 후, 반응기에 접종하였다.

## 배지

종배양 배지의 조성은 10 g/L sucrose, 2.0 g/L (NH<sub>4</sub>)Cl<sub>2</sub>, 7.5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.95 g/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.2 g/L MgCl<sub>2</sub>, 0.026 g/L CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1 ml/L trace element sol'n이다. 이때 0.3 mM DBT를 유일황원으로 이용하였다. air-lift 반응기에서의 배양액의 조성은 0~9.2 g/L sucrose, 2.0 g/L (NH<sub>4</sub>)Cl<sub>2</sub>, 7.5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.95 g/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.2 g/L MgCl<sub>2</sub>, 0.26 g/L CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1 ml/L trace element sol'n이다. 황원은 황함량 250 ppm의 디젤을 이

용하였다.

### 반복회분식 디젤탈황

CYKS1을 air-lift 반응기에서 반복회분식 조업을 통하여 디젤탈황을 하였다. 반응기 내에 draft tube를 설치하고 draft tube 외부에 미생물 고정화용 nylon 재질의 섬유상 담체를 설치하였다(Figure 1). 디젤탈황을 시작하기 전에 CYKS1을 고정화 해주기 위해 황원으로 DBT를 포함한 배지에서 배양해 주었다. 각각의 batch는 디젤 황농도가 일정해지면 종료시켰으며, 증류수로 두 번 세척해주고, 새로운 디젤과 배지를 교체해주었다. 조업 조건은 30°C, pH 7.0, 600rpm이고, 총 배양액의 부피는 5L이었다.

### 분석

디젤 황함량과 성분은 sulfur chemiluminescence detector (SCD)와 flame ionization detector (FID)를 갖춘 GC(HP 6890)를 이용하여 분석하였다. GC column은 HP-5를 이용하였다. 배양액 중의 sucrose 농도는 ELSD를 갖춘 LC(Waters)를 이용하여 분석하였다. LC column은 carbohydrate analysis(Waters)를 이용하였다.

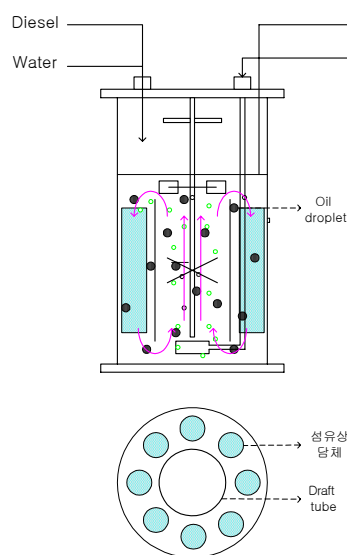


Figure 1. Schematic diagram of air-lift reactor

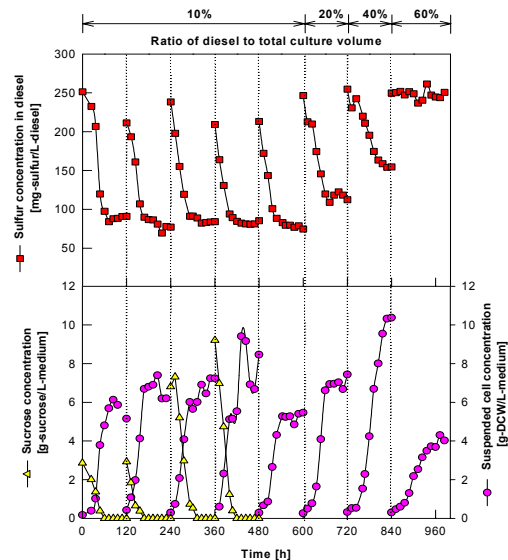


Figure 2. Desulfurization of diesel in air-lift reactor

### 결과 및 토의

Figure 2는 각 탈황반응에서의 디젤 황 농도 및 sucrose와 세포농도를 보여준다. 250 ppm의 황을 포함한 디젤을 유상비(vol diesel/total culture)가 10, 20, 40, 60%가 되게 첨가하여 탈황효율을 조사하였다. 10% 유상비에서 처리된 디젤의 황농도가 80 ppm으로 탈황 효율이 가장 높았고, 유상비가 증가할수록 탈황 효율이 저하되었다. 10% 유상비에서 미생물의 탄소원으로 이용된 sucrose의 농도에 따른 미생물의 성장과 탈황 효율을 조사한 결과, 균주 CYKS1은 sucrose의 농도에 관계없이 일정한 성장 및 탈황 효율을 보였다. 디젤의 탈황 효율이 같은 것은 디젤 성분 중에서 균주 CYKS1의 탈황효율이 떨어지는 황화합물이 존재한다는 것을 의미한다. GC-SCD chromatogram을 보면, 미처 제거되지 못한 황화합물들이 존재하는 것을 알 수 있다(Figure 3).

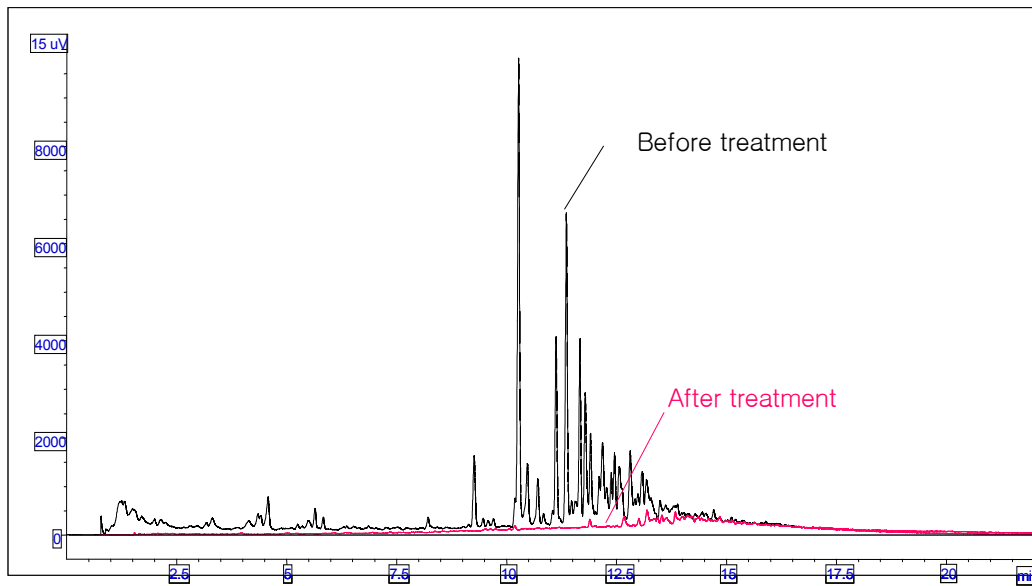


Figure 3. Comparison of chromatograph of sulfur compounds in diesel which were treated and untreated in air-lift reactor

한편, 공급된 sucrose보다 생산된 세포양이 많았으며, sucrose를 공급해주지 않아도 세포가 성장하고 처리후의 디젤 황농도는 sucrose를 공급해 주었을 때와 같았다. 이것은 CYKS1이 탄소원으로 sucrose 외의 다른 성분을 이용한다는 것을 의미한다. 또한 sucrose를 공급해주지 않아도 디젤을 탈황하는데 충분한 탄소원이 존재함을 의미한다. Figure 4는 처리되기 전·후의 디젤 성분을 나타낸다. 여기서 주 피크들은 saturated hydrocarbons를 나타낸다. 처리된 후의 피크들을 비교해보면, 주 피크들이 주로 분해가 일어나는 것을 볼 수 있다. 따라서, 균주 CYKS1이 sucrose 외에 디젤 성분중의 saturated hydrocarbons를 탄소원으로 이용하는 것을 확인할 수 있었다. 이제까지 발견된 탈황 미생물들은 DBT에서 링구조를 깨지않고 황만을 특이적으로 제거하여 디젤의 연료손실을 가져오지 않는다고 알려져 있었고, 본 실험에서 사용한 *Gordonia nitida* CYKS1 또한 DBT에서 황만을 제거하는 균주다. 그러나, 디젤을 실험에 적용한 결과는 DBT에서 황만을 특이적으로 제거한다고 해서 다른 디젤 성분까지 분해하지 않는다고 확신할 수만은 없다는 것을 보여준다. 따라서 석유 탈황 미생물을 선별하는 경우, 황화합물로부터 황을 제거하는 능력뿐만 아니라 유분의 이용 가능성을 확인하는 것이 필요하다.

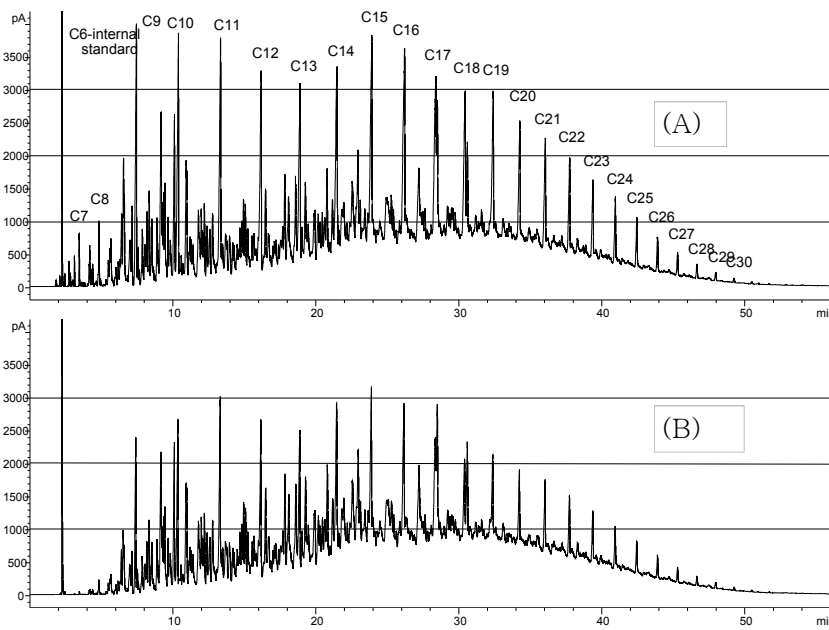


Figure 4. Determination of hydrocarbons utilized as carbon source: hydrocarbons of (A) untreated and (B) treated diesel

#### 참고문헌

1. Daniel J Monticello, Current Opinion in Biotechnology, 11:540-546 (2000)
2. Sung-Keun Rhee et. al., Applied and Environmental Microbiology, 2327-2331 (1998)
3. T. Furuya et. al., Applied Microbiology and Biotechnology, 58:237-240 (2002)
4. F. Solano-Serena et. al., Journal of Applied Microbiology, 86:1008-1016 (1999)
5. Jin Konishi et. al., Applied and Environmental Microbiology, 3164-3169 (1997)
6. Eric N. Kaufman et. al., Applied Biochemistry and Biotechnology, 73:127-144 (1998)
7. Manabu Naito et. al., Applied Microbiology and Biotechnology, 55:374-378 (2001)