

## 바이오에탄올 생산

### Enzymatic hydrolysis & Fermentation

4주차 실험의 목표는 3주차 실험에서 전처리한 biomass에 효소와 yeast를 첨가하여 바이오 에탄올을 생산하는 것이다. 각 전처리 조건에 따라 생산되는 바이오 에탄올의 양을 비교하여 전처리와 당화, 발효 사이의 관계 및 셀룰로오스에 대한 효소 및 균의 접근성과 관련하여 설명할 수 있다.



#### 1. 실험재료

- ① 시료 : 3 주차 전처리된 **백합나무**(1 조), **유채대**(2 조), **삼나무**(3 조)
- ② 실험 기기 : Autoclave, Shaking incubator, Oven(105°C), Desiccator, Aspirator
- ③ 사용균 및 효소 : Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*),  $\beta$ -glucosidase (Novozyme 50010), Cellulase (Novozyme 50013)

#### 2. 실험방법

##### A. Yeast 의 배양

- ① 250 mL flask에 증류수 90ml에 Yeast extract 1g, peptone 2g을 넣고 autoclave에서 멸균한다 (@121°C, 15 min).
- ② 증류수 10 mL 에 dextrose 2 g을 녹인 후 0.45 $\mu$ m filter로 여과하여 ①에 10 mL 을 투입한다. (즉 배지의 총량은 100 mL 이 되고 yeast extract 1 g, peptone 2 g, dextrose 2 g이 투입되게 된다)
- ③ 제작된 YPD 배지를 clean bench 내에서 온도를 낮추고, 배양 접시에서 키운 yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)를 접종한다. 접종 방법은 멸균된 micropipet tip을 이용하여 떨어져있는 colony 하나를 떠

준 후 배지를 이용한 pipetting을 이용하여 접종하면 된다.

- ④ 접종된 flask를 Shaking incubator에서 30 °C, 150 rpm의 조건으로 24시간동안 배양한다.

### B. SSF 동시당화 발효

- ① 250 mL flask에 전건중량 3 g에 해당하는 biomass를 담는다 (2회 반복).
- ② 시료에 포함된 water의 양을 포함하여 투입되는 총 water의 양이 50mL가 될 수 있도록, pH 5 sodium acetate buffer 50 mM의 투입량을 계산하여 담은 후, autoclave에서 멸균한다 (121°C, 15 min).
- ③ 멸균된 SSF Medium을 clean bench에서 식힌 후, 효소  $\beta$ -glucosidase (Novozyme 50010), cellulase (Novozyme 50013)와 Yeast nutrient (trace element), 그리고 미리 배양된 Yeast를 2g DCW (Dried Cell Weight) 만큼 접종한다.
- ④ Shaking incubator 에서 30°C, 150rpm 으로 72 시간 동안 발효시킨다.
- ⑤ 72 시간 후 sampling 을 하여 생산된 ethanol 의 양을 HPLC 로 분석하고, 시료 조건에 따른 차이를 비교, 분석한다.

### 3. Report

- ① 실험 report

※ 4 주차 data 는 3 주차 실험결과와 합쳐서 실험 report 를 작성합니다.

※ HPLC 결과에서 glucose, xylose (ppm 단위)는 처음 전건 시료중량에 대한 %(w/w)단위로 나타내시오. Furfural, HMF, acetic acid, formic acid (mM 단위)는 g/L 단위로 나타내시오. Ethanol 은 위의 2 가지 단위에 대해서 모두 나타내시오.

※ Report는 MS워드 (글자크기10, 줄간격1) 또는 한글 (글자크기10, 줄간격120)을 이용하여 작성하십시오.

※ 실험 report의 작성 순서는 (영문 또는 한글로) 1. Introduction (서론), 2. Materials and methods (재료 및 방법), 3. Results and discussion (결과 및 고찰), 4. Conclusions (결론), 5. References (참고문헌)의 순서대로 하십시오.

※ 조별간의 data를 공유하여 시료별로 비교하는 실험 report로 작성하십시오.

※ 실험 report는 copy시에 점수에 크게 (-)반영되며, '정확한 계산' 및 '과학적인(합리적인) 근거의 분석'에는 높은 점수가 부여됩니다. 다양한 references의 활용에도 높은 점수가 부여됩니다.

※ 실험 report에서 다루는 data 중, 평균을 계산하여 사용하는 경우 반드시 표준편차도 나타내십시오.

- ② 조사 report

② 없음

※ 기타문의사항 연락처 : ① <http://woodchem.snu.ac.kr> (Lecture board (undergraduate)), ② [eydam17@snu.ac.kr](mailto:eydam17@snu.ac.kr), ③ 6203 호 정한섭