

리그닌 추출 및 글루코오스 생성을 위한 볏짚의 화학적 전처리법

김우식 · 성준용* · 유인상

연세대학교 화학공학과

*동양화학공업(주) 중앙연구소

(1987년 1월 15일 접수, 1987년 5월 6일 채택)

Chemical Pretreatment of Rice Straw for Lignin Extraction and Glucose Production

Woo-Sik Kim, Joon-Yong Sung and In-Sang Yoo

Dept. of Chem. Eng., Yonsei University

* Oriental Chemical Industrys, Research Center

(Received 15 January 1987; accepted 6 May 1987)

요 약

농산폐자원인 볏짚으로 부터 유용성분을 효과적으로 추출, 분리하기 위한 전처리 방법으로서 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 하고 부틸알코올과 물을 용매로 볏짚과 반응시켜 리그닌과 셀룰로오스를 추출분리 하였다. 반응결과 반응온도 120°C, 반응시간 2시간이 최적조건이었으며, 이때 리그닌 추출율은 약 87%였다.

속도식은 1차반응으로 나타낼 수 있었으며 반응속도 상수 값은 0.14 hr⁻¹이었다. 또한 전처리된 볏짚을 가수분해시켜 14 mg/ml의 글루코오스를 얻을 수 있었다.

Abstract— As a pretreatment of agricultural waste to utilize their useful components, rice straw was delignified by using butanol and water as solvent in the presence of p-Toluenesulfonic acid.

Optimum condition were 120°C and 2 hr. At that time separated lignin was 87% and reaction rate was first order reaction. $k=0.14 \text{ hr}^{-1}$.

The amount of glucose was 14 mg/ml after hydrolysis of pretreated rice straw.

1. 서 론

현재 연구개발되고 있는 여러가지 대체 에너지원 중에서 특히 농산폐기물(Biomass)은 태양에너지의 2차 형태로서 양적, 질적으로 무한한 가능성을 가지고 있으며, 쉽게 구할 수 있다는 점에서 각광을 받고 있다. 또한 농산폐기물로 부터 각종 화학물질을 생성할 수 있어 정밀화학공업면에서도 크게 기대되고 있다[1, 2, 3].

볏짚을 비롯한 대부분의 농산폐자원은 주로 Lignocellulosic 물질로 구성되어 있으며, 주성분은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌으로서 이들 각 성분의 활용에 관하여 많은 연구가 진행되고 있으나, 기술적인 문제와 경제성 등으로 대부분 실용화되지 못하고 있는 실정이다[4, 5].

볏짚으로 부터 유용물질을 분리 생성하는데 있어서 특히 고려해야 할 사항은 결정화구조로 이루어진 셀룰

로우스와 가수분해 반응시 방해제로 작용하는 리그닌의 화학적, 물리적 특징이다. 특히 리그닌은 셀룰로오스의 가수분해 당화반응시 방해제로 작용하는 고분자물질로서, 이를 효과적으로 전처리하여야 하며, 이 전처리공정이 전체 공정의 효율화와 경제성면에서 매우 중요한 부분이다. 한편 추출분리된 리그닌은 Vanillin 등의 화학물질 제조의 중요 원료가 된다[6, 7]

전처리 기법은 크게 나누어 리그닌을 추출분리하는 방법과 결정화된 셀룰로오스를 파괴하는 방법이 있으며, 이에 대한 물리적, 화학적, 생물학적 방법들이 연구되고 있다. 물리적 전처리법에는 Lignocellulosic 물질을 기계적 방법으로 셀룰로오스의 결정을 깨어 효소나 산촉매가 접촉하기 쉽게 하여 반응을 촉진시키는 방법과 Steam 등으로 처리하여 세포벽의 기공을 확산시켜 효소 등이 반응에 쉽게 참여하게 하는 방법 등이 있다[8, 9, 10].

한편 화학적 전처리방법은 셀룰로오스를 둘러싸고 있는 리그닌을 화학적방법으로 분리하고, 셀룰로오스의 결정구조를 파괴하는 방법으로서 산, 알칼리, 산화제 및 추출용매들이 사용되고 있다. 최근 화학적 전처리법 중에서 유기용매에 의한 리그닌 분리가 셀룰로오스 및 리그닌의 활용면에서, 효율적 방법으로 알려지고 있으며, 유기용매에 적절한 촉매를 첨가하여 보다 효율적인 처리를 할 수 있는 방법들이 연구 진행중에 있다[11, 12, 13].

본 실험에서는 셀룰로오스와 추출된 리그닌의 효율적인 활용을 위하여 부틸알코올을 용매로 하고 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 하여 리그닌을 추출분리하는 메카니즘을 규명함과 아울러 전처리된 벚짚 셀룰로오스를 Cellulase로 가수분해시켜 글루코오스를 생성하였다.

2. 실험재료 및 방법

본 실험의 재료로는 건조된 벚짚(경기도산)을 사용하였으며, Fig. 1과 같은 고압반응기(2L. Stainless steel)에서 실험하였는 바, 부틸알코올과 물을 1:1로 혼합한 용매 500 ml에 벚짚을 10-45g, 반응시간을 1-4 시간, 반응온도를 80-180°C, HCl과 p-Toluenesulfonic acid를 0.1-1.0%로 변화시키며 실험하였다.

각각의 조건에 따른 실험을 행한 후, 내용물질을 상온에서 바로 냉각, 여과시켜 용매가 완전히 제거될 때까지 세척하고, 90°C로 1일간 건조시킨 후 무게를 측정하였으며, 반응 후 남아있는 벚짚의 잔량분율(Residue Yield)은 $\text{Residue Yield} = (\text{전처리 후의 벚짚의 무게}) /$

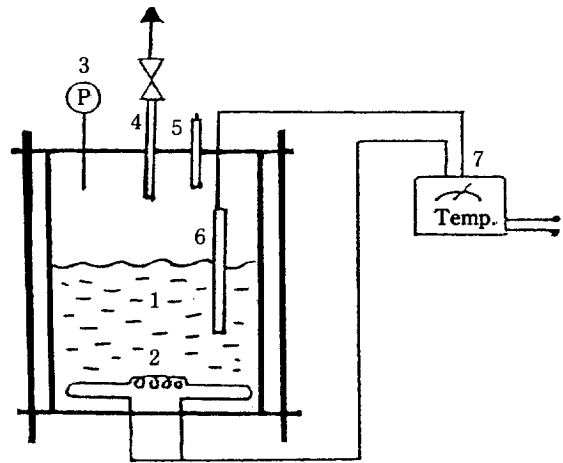


Fig. 1. Apparatus for high pressure delignification process.

1. High Pressure Reactor
2. Heating Element
3. Pressure Gauge
4. Vent, Check Valve
5. Safety Valve
6. Thermocouple
7. Temperature Regulator

(전처리 전의 벚짚의 무게)로 나타내었다. 또한 리그닌 추출율은 (전처리 전 벚짚에 포함된 리그닌량 - 전처리 후 벚짚속의 리그닌량) / (전처리 전 벚짚에 포함된 리그닌량)으로 정의하였다.

처리된 벚짚의 셀룰로오스 함량은 수정된 Norman-Jenkin 방법을[14], 리그닌은 Acetyl bromide법을[15], Ash는 ASTM D-1102법을 사용하여 각각 측정하였으며, 헤미셀룰로오스는 위 값들의 잔량으로 나타내었다.

본 실험에서 사용한 벚짚의 구성 성분함량은 건조함량 기준으로 셀룰로오스 35.6%, 헤미셀룰로오스 34.2%, 리그닌 15.8%, Ash 14.4%였고, 초기수분함량은 10.8%였다.

한편 전처리된 벚짚은 Cellulase(Sigma C-0901)와 β -Glucosidase(Sigma G-8625)를 사용하여 가수분해시켰으며, 회분당화 실험에서 반응온도를 50°C로 하고, 반응 pH를 4.4로 고정시켰으며 벚짚과 반응용액의 비율을 4% (w/v)로 하여 실험하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3-1. 반응온도의 영향

부틸알코올 250 ml, 물 250 ml의 혼합용매에 촉매

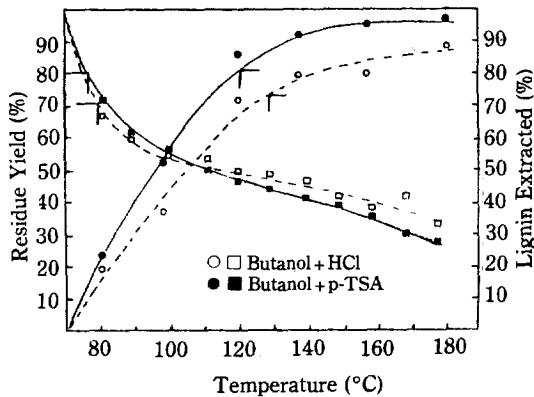


Fig. 2. Effect of temperature on delignification process of rice straw.
(Butanol + Water (1:1) 500ml, Rice Straw 25g, p-TSA 2.5 ml, HCl 2.5ml, Reaction Time, 2hr.)

로 HCl과 p-Toluenesulfonic acid를 각각 2.5ml 넣고 2시간 반응시켰을 때 반응온도에 대한 Residue Yield 및 리그닌 추출율을 Fig. 2에 나타내었다.

그림과 같이 반응온도가 높을수록 Residue Yield는 계속적으로 감소하고, 리그닌 제거율은 증가한다. 그러나 120°C 이상에서는 리그닌이 제거되는 양에 비하여 Residue의 감소량이 상대적으로 크고, 리그닌 이외의 헤미셀룰로오스, 셀룰로오스의 분해가 일어나 Depolymerization 현상이 나타난다. 이는 Ghose et al. [11] 등의 결과와 같은 경향을 보이고 있다. 따라서 리그닌의 최적 추출조작온도는 120°C로 판단된다. 또한 HCl을 촉매로 사용한 경우보다 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 하였을 경우 15% 이상의 리그닌 추출 효과를 나타내었다.

3-2. 촉매량의 영향

부틸알코올 250ml, 물 250ml의 혼합용액 500ml에 벚짚 25g을 넣고 반응시간 2시간, 반응온도 120°C의 조건에서 p-Toluenesulfonic acid 및 HCl을 촉매로 하여 촉매량을 변화시켜 실험한 결과는 Fig. 3과 같다.

그림과 같이 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 사용하였을 경우 Residue Yield는 촉매량이 0.8% 될 때까지 계속 감소하며, 리그닌 추출율은 0.5% 이상에서는 거의 일정한 값을 나타내었다.

한편 HCl을 촉매로 하였을 경우 Residue Yield는 0.3%까지 급격히 감소하다가 그 이후는 완만해짐을 알 수 있다. 그러나 리그닌 추출율은 촉매량이 0.3%일 때 최대값을 보이다가 점차 감소함을 알 수 있는 바, 촉매

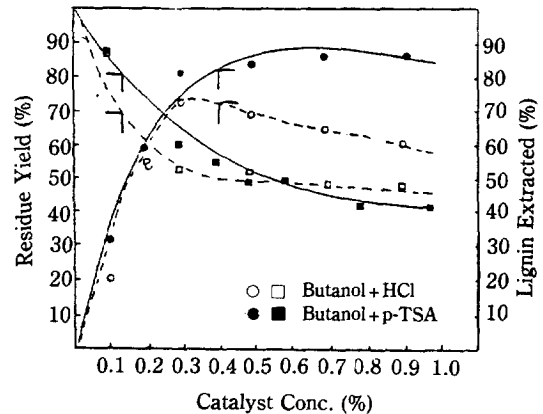


Fig. 3. Effect of catalyst concentration on various delignification process.
(Reaction Conditions, the same as Fig. 2)

량이 증가할수록 Residue는 계속적으로 감소하나, 리그닌의 일부는 용매상으로 추출되고, 일부는 중간물질인 Carbonium ion으로 된다. 이때 Carbonium ion이 다시 미반응된 리그닌과 결합하여 재응축되는 것으로 사료된다.

3-3. 리그닌 분리추출의 반응속도론적 해석

최근 리그닌의 분리추출시, 촉매에 의한 분해반응은 α -aryl ester와 리그닌-헤미셀룰로오스 결합을 가수분해시키는 것이라고 발표된 바 있으며[11], 또한 리그닌 추출단계에서 리그닌에 포함되어 있는 Phenolic, Alcoholic hydroxyl groups에 의한 극성 때문에 분자 상호간의 수소결합이 야기되어 추출이 상당히 느리게

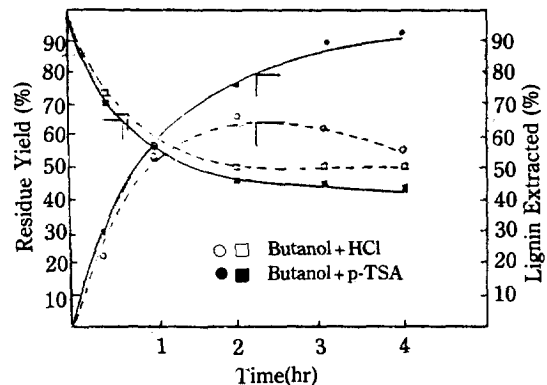


Fig. 4. Effect of time on delignification process of rice straw.
(Catalytic Concentration, 2.5ml/500ml Reaction Temperature, 120°C; Other Conditions, the same as Fig. 2.)

진행되며, 또한 추출시 리그닌의 분해 중간 생성물인 Carbonium ions의 영향으로 리그닌의 재응축이 일어날 수 있다고 보고된 바 있다[11, 12].

이런 관점에서 고분자 형태의 리그닌이 촉매와 반응하여 저분자의 가용성 리그닌으로 분리되는 반응기구는 비교적 복잡한 물리적, 화학적 단계를 거친다고 볼 수 있다. 본 실험에서는 반응속도론적 해석을 위하여 다음과 같은 실험을 하였는 바 반응온도를 120°C로 하고, 부틸알코올 250 ml, 물 250 ml의 혼합용매에 벚짚 25 g, 촉매로 HCl과 p-Toluenesulfonic acid 2.5 ml를 각각 넣고 반응시켰을 때 반응시간에 대한 Residue Yield는 Fig. 4와 같다. 반응시간이 경과함에 따라 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 사용한 경우 Residue Yield는 2시간까지 급격히 감소되다가 그 이후부터는 완만해지는 경향을 보였으며, 리그닌 추출율은 4시간까지 지속적인 증가를 보였다. 이는 p-Toluene-sulfonic acid가 분해된 리그닌의 Carbonium ion을 치환시켜 리그닌의 응축이 일어나지 않음을 보여주고 있다. 그러나 HCl을 촉매로 사용하였을 경우 Residue Yield는 p-Toluenesulfonic acid와 비슷한 경향을 보이다가 2시간 이후에는 다시 약간 증가함을 보이고, 리그닌 추출율은 2시간 이후에는 다시 감소함을 나타내는데, 이는 HCl 촉매가 리그닌이 분해되어 생긴 Carbonium ion을 치환시키지 못하므로 재응축되는 현상 때문으로 사료된다.

p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 사용하였을 경우, 반응시작 후 4시간이 경과할 때 약 95%의 추출율을 나타내었다.

또한 시간에 따른 전환율 관계를 Fig. 5에 나타내었다. p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 사용하였을 경우 중간 생성물인 Carbonium ion이 응축되지 않고 촉매의 방향족기에 치환된 후 안정된 저분자 리그닌이 되므로 log 좌표에서 선형적인 1차 반응식을 만족하였

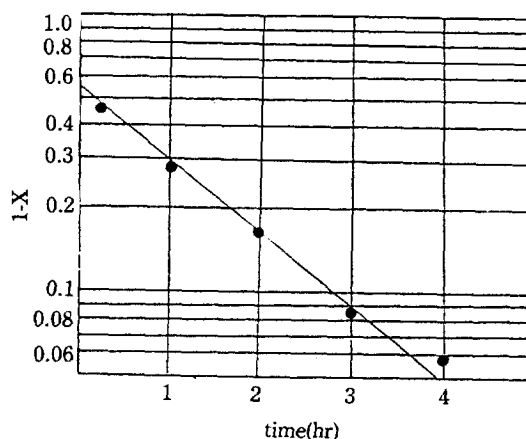


Fig. 5. Ln curve (1-X) vs. time.

고, 이때 $k=0.14 \text{ hr}^{-1}$ 이었다.

3-4. 촉매로 전처리된 벚짚의 성분 및 가수분해 비교

전처리 시키지 않은 벚짚과 0.8% p-Toluenesulfonic acid+부틸알코올 용액으로 120°C, 2시간 전처리시킨 벚짚 및 0.3% HCl+부틸알코올 용액으로 120°C, 2시간 전처리시킨 벚짚의 성분비교를 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 HCl로 처리한 벚짚은 p-Toluenesulfonic acid로 처리한 벚짚보다 셀룰로오스 함량이 4.1% 많고, Ash의 함량이 3.3% 적어 셀룰로오스의 활용면에서 다소 유리한 것처럼 보이나, p-Toluenesulfonic acid로 처리한 벚짚보다 리그닌이 상대적으로 더 많이 추출되어 리그닌 함량이 2.1% 적으므로 효소 가수분해시 리그닌의 방해를 받지 않아 글루코오스가 더 많이 생성됨을 알 수 있었다.

리그닌 추출반응의 최적조건에서 HCl로 전처리시킨 벚짚과 p-Toluenesulfonic acid로 전처리시킨 벚짚, 그리고 전처리 시키지 않은 벚짚 4%(w/v)를 pH 4.4

Table 1. Rice straw components after pretreatments.

Composition	Moisture	Rice Straw Composition (Dry Wt. Basis)			
		Cellulose	Lignin	Ash	Hemicellulose
Rice Straw					
Untreated Rice Straw	10.8%	35.6%	15.8%	14.4%	34.2%
Treated Rice Straw with 0.3% HCl + Butanol	10.6%	52.3%	4.4%	39.9%	3.4%
Treated Rice Straw with 0.8% p-TSA + Butanol	10.5%	48.2%	2.3%	43.2%	6.3%

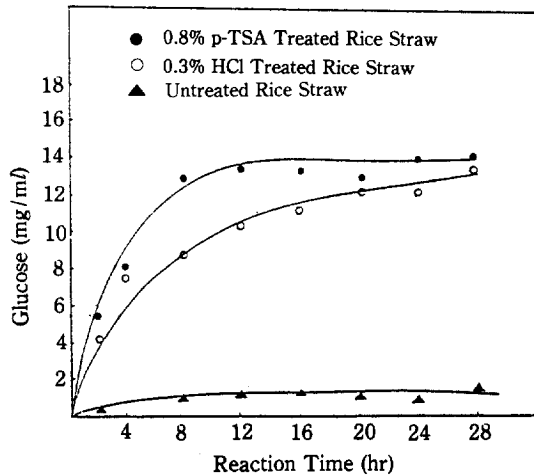


Fig. 6. Enzymatic hydrolysis of various treated rice straw.

(Reaction Temperature, 50°C; pH 4.4; Cellulase 21.8mg (11 unit/mg), β -Glucosidase 1.09 mg (5.2 unit/mg) in 50 ml Reaction Solution; Rice Straw Concentration, 4%(w/v))

의 반응용액 (50 ml)에 넣은 후, 효소로 Cellulase 21.8 mg (11 unit/mg), β -Glucosidase 1.09 mg (5.2 unit/mg)을 첨가하여 각각 가수분해시켜 실험한 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

부틸알코올 용액에서 0.8% p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 하여 전처리시킨 벚짚은 24시간 반응 후 가장 많은 양인 14 mg/ml의 글루코오스를 생성하였으며 또한 글루코오스 생성량을 벚짚속에 포함된 셀룰로오스의 글루코오스 전환율로 나타내면 0.8% p-Toluenesulfonic acid로 처리한 벚짚이 73%, 0.3% HCl로 처리한 벚짚이 57.4%, 전처리되지 않은 벚짚이 11.9%였다.

이와같이 p-Toluenesulfonic acid로 전처리시킨 벚짚의 경우 글루코오스 전환율이 큰 것은 이 전처리 과정에서 리그닌이 가장 많이 추출되었으며, 효소가 가수분해반응에 쉽게 참여할 수 있도록 벚짚 구조가 변화하였기 때문으로 사료된다.

4. 결 론

전처리 기법을 적용한 벚짚으로 부터의 리그닌 분리 추출 및 글루코오스 생성 실험결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 리그닌 분리 추출의 최적조건으로서 p-Toluen-

-esulfonic acid 2.5g을 촉매로 하여 부틸알코올과 물을 1:1로 혼합한 용매 500 ml에 벚짚 25g을 넣고 120°C, 2시간 반응시켰을 때 Residue Yield는 48%, 리그닌 추출율은 87%를 나타내었다.

2. 부틸알코올 존재하에 p-Toluenesulfonic acid를 촉매로 한 리그닌 분해반응은 겉보기 1차 반응이었으며, 이때 $k=0.14 \text{ hr}^{-1}$ 이었고, p-Toluenesulfonic acid의 방향족기가 Carbonium ion의 치환제로서 작용하여 리그닌의 응축이 일어나지 않았다.

3. 반응 최적조건에서 p-Toluenesulfonic acid와 부틸알코올+물로 전처리시킨 벚짚을 pH 4.4의 반응용액 50 ml에 4%(w/v)로 넣고 Cellulase 21.8 mg (11 unit/mg), β -Glucosidase 1.09 mg (5.2 unit/mg)을 효소로 하여 50°C에서 8시간 가수분해시킨 결과 14 mg/ml (73%)의 글루코오스를 얻을 수 있었다.

REFERENCES

1. Trezek, G.J. and Golueke, C.G.: AIChE symposium series, **72**, 52 (1976).
2. Detroy R.W. and Hesseltine C.W.: Process Biochemistry, September, 2 (1978).
3. Chen, Yub-Ren, Vincent, H.Varel and Andrew G.Hashimoto: Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., **19**, 471 (1980).
4. Reed, T.B. and Bryant, B.: AIChE symposium series, **74**, 26 (1978).
5. Donald, L.Klass and George, H.Emert: "Fuels from Biomass and Waste", Ann Arbor science, (1981).
6. Irving, S.Goldstein: Biotech. and Bioeng. Symp., **6**, 293 (1976).
7. Davis, Clements L., Steven Beck and Caryl heintz: CEP, November, 59 (1983).
8. Gharpuray, M.M., Lee, Yong-Hyun and Fan, L.T.: Biotech. and Bioeng., **25**, 157 (1983).
9. Merrill, A.Millett, Andrew, J. Baker, and Larry, D. Satter: Biotech and Bioeng. Symp., **6**, 125 (1976).
10. Fan, L.T., Lee, Young-Hyun and David, H. Beardmore: "Advances in Biochemical Engineering", **23**, 101, Springer-Verlag (1982).
11. Ghose, T.K., Pannir Selvam, P.V. and Ghosh, P.: Biotech. and Bioeng., **25**, 2577 (1983).
12. Morris Wayman and Jairo, H.Lora: Tappi, **61**, 55 (1978).
13. Pannir Selvam, P.V., Ghose, T.K. and Ghosh, P.: Process Biochemistry, May/June, 13 (1983).
14. Louis, E.Wise: "Wood Chemistry", 582, Reinhold Publishing Corporation., (1944).
15. Morrison, I.M.: J. Sci. Fd. Agric., **23**, 1463 (1972).