

## 염기 용매를 이용한 보릿짚의 전처리 특성

김경섭 · 김준석<sup>†</sup>

경기대학교 화학공학과  
443-760 수원시 영통구 이의동 산 94-6  
(2011년 5월 24일 접수, 2011년 6월 17일 채택)

## Characterization of Pretreatment for Barley straw by Alkaline Solutions

Kyoung-Seob Kim and Jun Seok Kim<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kyonggi University, 94-6 Yiui-dong, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 443-760, Korea  
(Received 24 May 2011; accepted 17 June 2011)

### 요 약

최근의 식량자원과 증돌의 우려가 있는 전분질계 에탄올 생산에 문제점이 대두되고 있고, 기존의 화석에너지를 대신할 새로운 재생가능 에너지개발에 대한 요구가 지속적으로 증가하면서 새로운 에너지 자원으로써 셀룰로오스 계열 바이오매스가 지속적인 주목을 받고 있다. 하지만 지난 수십 년 간의 연구에도 불구하고 셀룰로오스 에탄올이 가격 경쟁력을 가지지 못하는 이유는 셀룰로오스 계열 바이오매스의 구성성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌의 분리 과정이 어렵고, 전처리 과정 중 생산되는 부산물질에 의한 당화 및 발효율이 낮다는 점과, 당화를 위해 다량의 효소가 필요하고 가격이 비싸다는 점이다. 바이오 에탄올 생산을 위한 전처리 공정 기술을 상용화 단계까지 효율적이고, 경제적으로 구축하기 위해서는 경제성이 확보되고 원천 기술 적용이 가능한 바이오매스의 선정과 더불어 기존 기술들의 문제점을 파악, 극복하면서 전체 생산 수율을 높이는 동시에 에너지 저감형태의 새로운 전처리 공정 기술 개발이 필요하다. 본 논문에서는 이러한 문제 점을 해결하기 위해 이전부터 많은 연구가 이루어진 농업 부산물 계열의 볏짚과 그 특성이 비슷한 것으로 보이는 보릿짚을 바이오매스로 선택하여 보편적으로 이용되고 있는 염기 전처리를 적용하여 그 특성에 대하여 파악해 보고자 하였다. 보릿짚은 볏짚과 비교하였을 때 셀룰로오스와 리그닌의 함량이 각각 41.60%와 17.56%로 그 함량이 비슷하게 나타났고 가축 사료로 사용되고 있는 볏짚에 비해 수급단가 또한 상대적으로 낮아 매우 경제적인 바이오매스로 보여진다. 보릿짚을 이용한 암모니아 침지 반응을 통한 볏짚과의 비교에서는 암모니아 농도; 15%, 반응온도; 60 °C 반응시간; 24hr의 조건에서 전처리 후 리그닌 제거율 29.09%, 가수분해도 64.78%(16.01 g/L), 에탄올 수율 56.50%(8.65 g/L)로 나타나 볏짚에 비해 그 효과가 낮은 것으로 나타났지만 암모니아에 의한 전처리에 상당한 효과가 있는 것으로 보여진다. NaOH 침지 반응은 NaOH 농도; 2%, 반응온도; 85 °C, 반응시간; 1hr 동안 반응하여 볏짚과 암모니아 침지 반응에 대한 비교를 통해 그 특성을 파악하였다. NaOH 침지 반응 후 보릿짚의 상대적인 리그닌 제거율; 24.15%, 가수분해도; 58.40%(15.39 g/L), 에탄올 수율 52.56%(8.35 g/L)의 결과를 얻어, 보릿짚이 암모니아를 이용한 전처리와 NaOH를 이용한 전처리 즉 염기 용매를 이용한 전처리에 있어 효과적인 리그닌 제거가 가능한 것으로 결론 지을 수 있고 본 연구 결과를 바탕으로 차 후 NaOH와 암모니아 침지 반응 및 침출 반응의 최적화 연구를 통해 각 전처리의 최적화 조건을 설정할 수 있을 것으로 보인다.

**Abstract** – Lignocellulose is difficult to hydrolyze due to the presence of lignin and the technology developed for cellulose fermentation to ethanol is not yet economically viable. However, recent advances in the extremely new field of biotechnology for the ethanol production are making it possible to use of Agriculture residual biomass, e.q., Barley straw, because of their several superior aspects as Agriculture residual biomass; low lignin, high contents of carbohydrates. Barley straw consists of 39.78% cellulose (glucose), 22.56% hemicelluloses and 19.27% lignin. Pretreatment of barley straw using NaOH pretreatment solutions concentration with 2%, temperature 85 °C and reaction times 1 hr were investigates. NH<sub>4</sub>OH pretreatment condition was solutions concentration with 15%, temperature 60 °C, and reaction times 24hr were investigates. Furthermore, enzymatic saccharification using cellulase at 50 °C, pH 4.8, 180 rpm for conversion of cellulose contained in barley straw to monomeric sugar. The pretreatment of barley straw using NaOH and NH<sub>4</sub>OH can significantly improve enzymatic saccharification of barley straw by extract more lignin and increasing its accessibility to hydrolytic enzymes. The result showed NaOH pretreatment extracted yield of lignin was 24.15%.

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: jskim84@kyonggi.ac.kr

NH<sub>4</sub>OH pretreatment extracted yield of lignin was 29.09%. Shaccharification of barley straw pretreatment by NaOH for 72hr and pH 4.8 result in maximum glucose concentration 15.39g/L (58.40%) and by NH<sub>4</sub>OH for 72hr and pH 4.8 result in maximum glucose concentration 16.01g/L (64.78%).

Key words: Biomass, Barley Straw, NaOH, SAA, Pretreatment, Bio ethanol, Enzymatic Saccharification

## 1. 서 론

최근 화석 에너지의 고갈 및 화석연료 사용에 따른 고 유가와 CO<sub>2</sub> 배출에 의한 지구온난화 문제로 인한 대체 에너지 개발이 활발히 진행되고 있는 가운데 생물자원을 이용한 바이오 연료 및 바이오 화학 물질로의 전환은 세계적인 추세이다. 바이오 에탄올은 전분이나 당을 이용하여 생산되는 에탄올(Starch ethanol)과 섬유소자원을 활용하여 생산되는 에탄올(Cellulosic ethanol)로 크게 구별한다. 이미 미국과 브라질에서는 옥수수과 사탕수수를 이용하여 에탄올을 생산하고 있으며, 생산된 에탄올을 휘발유에 10% 첨가한 gasohol 연료를 자동차연료로 사용하고 있다. 하지만 전분질계 에탄올 생산기술은 이미 포화단계에 다 달았으며, 익히 알고 있는 것처럼 세계적인 곡물가격의 폭등으로 인한 식량문제로 부딪혀 이를 연료나 화학물질로 사용하는 것에 대한 비판 여론이 형성되고 있다. 반면 셀룰로오식 에탄올은 아직 기술개발단계에 머물고 있지만 전분질계 에탄올의 문제를 일부 해결할 수 있는 대체 에너지로 다양한 분야에서 연구되고 있다. 이에 미국은 2007년 다양한 바이오매스로부터 셀룰로오식 에탄올을 생산하기 위해 pilot project를 지원하고 있으며, 2012년까지 상용화를 목표로 하고 있다. 또한 2017년까지 기존 화석 에너지 사용량의 20%까지를 다양한 재생원료를 이용한 친환경 에너지로 전환하는 “20 in 10” 계획을 추진하고 있다. 하지만 이는 곧 2017년까지 35 billion gallons의 바이오 에탄올을 필요로 하는 것이며, 이로 인해 급증하는 에탄올 수요를 맞추기 위해서 많은 양의 옥수수가 에탄올 생산의 원료로 이용된다. 이는 앞서 언급한 곡물가격의 폭등 및 이에 따른 다른 농축산물 가격의 급등 등 연관산업에 많은 부작용을 초래하고 있다. 옥수수를 에탄올 생산의 원료로 사용함에 있어 경제적, 윤리적 문제점을 야기하고 있으므로, 농업 부산물(옥수수대, 벼짚, 밀짚 등)과 임업 부산물 및 다양한 비식용 작물을 이용하여 바이오 에탄올 생산량을 늘려 나아가야 할 것으로 보인다[1-3]. 이 중 농업 부산물과 비식용 작물(초본계)은 임업 부산물(목질계 바이오매스)보다 셀룰로오식 에탄올 생산공정에 있어 가장 중요한 리그닌의 함유가 낮고 리그닌의 제거과정 또한 임업 부산물들에 비해 그 결합구조가 약하여 임업 부산물의 리그닌 제거과정보다 좀더 용이하다는 장점이 있다[4-7]. 농업 부산물의 대표적인 벼짚은 최근 많은 연구가 이루어지고 있지만 가축사료로도 많이 사용되어지기 때문에 경제성 문제에 있어 큰 단점을 지니고 있다. 따라서 본 논문에서는 리그닌 제거에 가장 효과가 좋은 암모니아 전처리 방법 중 암모니아 침지 반응(SAA; Soaking Aqueous Ammonia)과 NaOH 침지 반응을 적용하여 벼짚에 비해 낮은 생산량을 지니고 있지만 가축사료로서의 이용이 불가하여 원료수급 단가가 낮으며, 벼짚과 비슷한 특성을 지니고 있을 것으로 예상되는 보릿짚의 염기 전처리 후 그 특성을 파악하고자 하였다[8,9].

## 2. 실험재료 및 방법

### 2-1. 바이오매스

본 논문에서 사용된 농업 부산물 계열의 바이오매스는 농촌진흥청

바이오 작물 센터로부터 공급받은 벼짚과 보릿짚을 사용하였다. 사용된 바이오매스의 반응 표면적을 높이기 위한 물리적 방법으로서 커터밀을 사용하였다. 그리고 잘게 부순 바이오매스는 40 mesh의 sieve를 통과시켜 균일한 크기의 바이오매스를 사용하였으며, 균일한 크기로 처리된 바이오매스는 dry oven을 사용하여 45 °C에서 균일하게 수분이 제거되도록 건조한 후 고체 성분분석 및 전처리 실험에 사용하였다[10].

### 2-2. 재료

바이오매스의 전처리에 사용된 염기 전처리 용매는 NH<sub>4</sub>OH와 NaOH를 각각 사용하여 전처리 반응은 media bottle를 이용하여 반응시킨다. 전처리 후 각 전처리에 대한 영향을 알아보기 위한 효소 당화에 이용된 효소로는 한국 에너지 기술연구소(KIER; Korea Institute of Energy Research)로부터 공급받은 Celluclast 1.5L(Cellulase, Novo Co., Denmark)와 Novozyme-188( $\beta$ -glucosidase, Novo Co., Denmark)를 사용하였다. 또한 flask 당화에 사용된 완충용액은 sodium citrate buffer를 제조하여 사용하였다. 마지막으로 Flask 발효실험에 사용된 에탄올 발효 균주는 계대배양 후 냉장 보관된 *sachharomyces cerevisiae*를 사용하였으며, 발효균주는 YPD media에서 활성화시킨다.

### 2-3. 전처리 방법

각 전처리는 다음과 같은 방법으로 실험을 수행하였다. 암모니아 침지 반응은 기존에 연구된 벼짚의 최적조건을 적용하여 벼짚과 동일한 조건에서 보릿짚의 암모니아 침지 반응의 전처리 영향에 대해 알아 보았다. 적용된 암모니아 침지 반응의 반응조건은 각각 반응농도 15%, 반응시간 24 hr 그리고 반응온도는 60 °C이었으며, 이때의 고액 비율은 1 : 6(10 g : 60 ml)으로 고정하였다. 또한 벼짚과 보릿짚은 각각 media bottle를 이용해 위와 같은 조건 아래에서 shaking incubator를 이용하여 180 rpm의 속도로 적절하게 혼합하며 암모니아 침지 반응을 수행하였다[11,12]. 반면 적용된 NaOH 침지 반응의 반응조건은 각각 반응농도 2%, 반응시간 1 hr 그리고 반응온도는 85 °C이었으며, 이때의 고액 비율은 1 : 4(10 g : 40 ml)로 고정하여 암모니아 침지 방법과 동일한 방법으로 실험을 수행하였다[13].

### 2-4. 효소당화 및 가수분해도 결정

당화실험은 기존 셀룰로오스 계열 바이오매스의 최적 당화조건을 적용하여 수행하였다. 적용된 조건은 반응온도는 50 °C, 반응pH는 4.8 그리고 반응시간은 72 hr 이다. 당화에 사용된 완충용액은 sodium citrate buffer(0.5 M, pH 4.8)를 사용하였다. 암모니아와 NaOH를 사용하여 전처리된 벼짚과 보릿짚을 기질농도 5 wt%로 sodium citrate buffer와 혼합하여 autoclave를 이용해 121 °C에서 15분 동안 멸균과정을 거친 후 상온으로 냉각시킨다. 그 후 효소를 40FPU/ml의 양을 첨가하고 50 °C의 shaking incubator 안에서 180 rpm의 속도로 교반을 시키며 당화를 진행하였다[12-15,18]. 이때 사용된 효소의 활성화도는 UV-spectrometer를 이용한 Ghose법으로 측정하였으며, 반복적인 활성화도 측정을 통해 그 평균적인 값을 구하였다. 이를 통해 측

정된 효소의 평균 활성도는 celluclast 1.5L의 filter paper activity가 65FPU/ml, Novozyme-188의  $\beta$ -glucosidase activity는 48CBU/ml로 측정되었다[16]. 측정된 활성화도를 기준으로 celluclast 1.5L의 활성화도를 40FPU로 맞추어 첨가하였다. Celluclast 1.5L와 Novozyme-188의 혼합비율은 3 : 1로 혼합하여 첨가하였다. 이후 일정시간 단위로 시료를 채취하며 채취된 시료의 글루코오스 농도는 HPLC를 통해 분석하였다[10]. 분석된 글루코오스 농도를 이용한 가수 분해도는 다음과 같이 정의된다[17,18].

Enzymatic digestibility =

$$\frac{\text{The amount of glucose released (g)} \times 0.9}{\text{Total initial glucan (g)}}$$

## 2-5. 발효

에탄올 발효실험은 계대배양 후 4 °C로 냉장보관되어 있던 *Sachharomyces cerevisiae* 균주를 사용하였다. YPD media에 사용되는 균주를 30 hr 동안 활성화시킨다. 효소당화 후 얻어진 당화액은 Autoclave를 이용해 121 °C에서 15분 동안 멸균한 후 상온으로 냉각시켜 사용하였다. 활성화된 균주는 당화액의 10% 양을 취하여 이를 멸균된 당화액에 혼합하였고 38 °C의 Shaking incubator 안에서 180 rpm의 속도로 교반을 시키며 발효를 진행하였다[12-15,18]. 일정 시간 동안 시료를 채취하여 에탄올의 농도를 HPLC를 통해 측정하였으며, 측정된 시료의 에탄올 농도를 이용한 에탄올 수율은 다음과 같이 정의된다[17,18].

$$\text{Ethanol yield} = \frac{[\text{EtOH}]_f - [\text{EtOH}]_0}{0.568 \times f[\text{Biomass}]} \times 100\%$$

## 2-6. 분석방법

NaOH 침지 반응의 전처리 특성을 찾기 위해서 전처리 반응 후 바 이오매스의 고체 잔존물, 탄수화물 함유율, 리그닌 함유율, 가수분해도 및 에탄올 수율 등을 고려하여 전처리 특성을 파악하였다. 암모니아 침지 반응의 전처리 특성 역시 기존 볏짚의 암모니아 침지 반응조건에 따른 전처리를 통해 그 결과를 비교함으로써 암모니아 침지 반응의 전처리 특성을 파악하였다.

전처리 전, 후 바이오매스의 성분분석은 미국 신재생 에너지 연구소(NREL)의 chemical analysis and testing standard procedure을 따라 탄수화물, 리그닌, 회분 등의 성분으로 분석하였다[10]. 탄수화물 성분의 분석은 위의 언급된 분석방법에 따라 HPLC(Waters Co.,USA)를 사용하였으며, 사용된 column은 aminex HPX-87-P column을 사용하였고 detector는 waters 410 RI detector를 이용하여 분석하였다. 사용된 이동상은 0.005 M의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였으며, 이때 이동상의 유속은 0.6 ml/min, Detector의 온도는 85 °C로 맞추어 분석을 실시하였다[10].

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 전처리 전, 후의 성분분석

보릿짚의 전처리 전, 후의 구성성분 결과를 Table 1에 나타내었다. 보릿짚의 전처리 전 성분은 셀룰로오스의 함유율이 41.60%로 볏짚의 함유율과 약 2%의 차이를 나타내 비교적 큰 차이를 보이지 않았다. 반면 당화 저해를 일으키는 리그닌의 함유율은 17.86%의 함유율

Table 1. Composition of biomass

Component (%)	Barley straw	Rice straw
Cellulose (Glucose)	41.60	39.88
Hemicellulose	19.16	22.12
Lignin	17.86	12.97
Ash	7.53	14.18
Moisture	9.48	7.56
Etc.	4.37	3.29
Total	100.00	100.00

을 가진 것으로 분석되어 볏짚의 함유율보다 약 5% 정도 높은 것으로 나타났다. 이는 보릿짚의 전처리에 있어서 볏짚의 최적 전처리 조건을 적용하였을 때 볏짚보다 다소 낮은 리그닌 제거 효과가 나타날 수 있을 것으로 예상되어지며 효소당화를 통한 글루코오스 전환율과 발효를 통한 에탄올 생산 수율에 있어서도 큰 차이를 보이지는 않았지만 볏짚에 비해서는 낮은 효과를 나타낼 것으로 예상된다.

### 3-2. 암모니아 침지 반응에 따른 구성 성분의 변화

암모니아 침지 반응 전, 후, 효소당화 및 발효 후 각각의 단계별 상대적인 탄수화물 함유율과 리그닌 함유율 및 여러 구성 성분의 변화를 분석하여 다음의 표와 그림에 나타내었으며, 이를 통해 볏짚과 보릿짚의 암모니아 침지 반응의 효과를 직, 간접적으로 비교해 보았다 (Table 2, 3). 우선 바이오 에탄올 생산 및 발효물질 생산에 있어 가장 중요한 성분인 탄수화물 성분의 변화를 비교 분석해 보았다. 암모니아 침지 반응 후 볏짚의 셀룰로오스 함유율은 기존 함유율에 비해 9.40%가 감소하였고 헤미셀룰로오스 함유율은 42.97% 감소하여 암모니아 침지 반응 후 셀룰로오스의 손실은 거의 없는 것으로 나타났다. 반면 헤미셀룰로오스의 손실은 많은 것으로 나타났다. 보릿짚 또한 암모니아 침지 반응 후 셀룰로오스 함유율이 8.26% 감소하였으며, 헤미셀룰로오스 함유율은 58.30%의 감소를 보였다. 위 결과 보릿짚 역시 암모니아 침지 반응 후 셀룰로오스의 손실은 적으며, 헤미셀룰로오스의 손실이 매우 많은 것으로 나타났으며, 두 기질을

Table 2. Composition changes of pretreated rice straw by SAA

Component (%)	Rice straw	SAA	After Hydrolysis	After Fermentation
Cellulose (Glucose)	39.88	36.13	8.01	7.18
Hemicellulose	22.12	12.62	0.77	0.64
Lignin	12.97	6.60	6.18	6.02
Ash	14.18	6.37	2.15	1.95
Moisture	7.56	5.83	0.97	1.18
Etc.	3.29	1.65	0.01	2.83
Total	100.00	69.20	18.10	19.80

Table 3. Composition changes of pretreated barley straw by SAA

Component (%)	Barley straw	SAA	After Hydrolysis	After Fermentation
Cellulose (Glucose)	41.60	38.16	13.44	13.20
Hemicellulose	19.16	7.99	2.29	2.11
Lignin	17.86	12.67	12.47	12.34
Ash	7.53	1.77	1.63	1.10
Moisture	9.48	5.54	2.68	2.52
Etc.	4.37	4.88	1.08	4.13
Total	100.00	71.00	33.60	35.40

비교해 보았을 때 보릿짚이 암모니아 침지 반응 후 헤미셀룰로오스의 손실이 좀 더 많은 것으로 나타났다. 이로써 암모니아 침지 반응 후 탄수화물 성분 중 헤미셀룰로오스의 손실이 많았지만 셀룰로오스의 손실이 비교적 낮은 범위에서 나타나 실질적인 발효물질 생성 당 생산에는 보릿짚이 벼짚과 더불어 유리한 기질을 확보할 수 있었다.

다음으로는 효소당화에 있어 효소의 활동 저해의 결정적 인자인 리그닌의 제거율을 비교 분석해 보았다. 암모니아 침지 반응 후 벼짚의 리그닌 함유율은 49.10%, 보릿짚의 리그닌 함유율은 29.10%로 각각 나타났으며, 이는 벼짚이 보릿짚에 비해 동일한 암모니아 침지 반응조건에서 높은 리그닌 제거 효과가 나타난다는 것을 알 수 있었다. 이는 전처리 반응 후 효소당화를 통한 글루코오스 전환율에 있어서 리그닌의 제거율이 낮게 나타난 보릿짚이 벼짚에 비해 낮은 전환율을 나타낼 것으로 예상할 수 있다. 또한 벼짚에 비해 낮은 리그닌 제거율 결과를 보인 보릿짚의 리그닌은 벼짚의 리그닌보다 구조적으로 조금 더 강한 결합구조 및 결합력을 가지고 있음을 간접적으로 예상할 수 있고 이로써 벼짚의 암모니아 침지 반응조건보다 높은 반응조건이 필요하다는 것을 예상할 수 있었다.

### 3-3. NaOH 침지 반응에 따른 구성 성분의 변화

NaOH 침지 반응 전, 후, 효소당화 및 발효 후 각각의 단계별 상대적인 탄수화물 함유율과 리그닌 함유율 및 여러 구성 성분의 변화 역시 다음의 표와 그림에 나타내었으며, 이를 통해 벼짚과 보릿짚의 NaOH 침지 반응 효과를 직, 간접적으로 비교 분석해 보았다(Table 4 & 5). 처음으로 위에서 언급한 바와 같이 당 생산 및 발효물질 생산의 중요 성분인 탄수화물의 변화를 살펴보았다. NaOH 침지 반응 후 벼짚의 셀룰로오스 함유율의 손실은 5.41%, 헤미셀룰로오스의 손실은 71.95%로 나타나 NaOH 침지 반응 후 셀룰로오스의 손실은 거의 없으나, 헤미셀룰로오스의 손실은 암모니아 침지 반응보다 더 많은 것으로 나타났다. 보릿짚의 경우 NaOH 침지 반응 후 셀룰로오스의 손실은 6.37%, 헤미셀룰로오스의 손실은 49.28%로 나타나 보릿

짚 역시 NaOH 침지 반응 후 셀룰로오스의 손실은 적으며, 헤미셀룰로오스의 손실이 매우 많은 것으로 나타났다. 하지만 보릿짚의 경우 벼짚과 다르게 암모니아 침지 반응보다 헤미셀룰로오스의 손실이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다. 이는 벼짚과 보릿짚 각각의 탄수화물 상호간의 결합 및 리그닌과 이루고 있는 결합의 구조와 결합력의 차이가 있음을 간접적으로 나타내는 것으로 예상할 수 있다.

다음은 NaOH 침지 반응 후 리그닌 제거율을 알아보았다. 벼짚의 NaOH 침지 반응 후 리그닌 제거율은 47.10%, 보릿짚은 24.15%로 각각 나타났으며, 이는 벼짚이 보릿짚에 비해 동일한 NaOH 침지 반응조건에서 높은 리그닌 제거 효과가 있는 것으로 보여지며, 또한 보릿짚의 암모니아 침지 반응보다 리그닌 제거 효과가 다소 낮게 나타났지만 그 차이가 약 2~3%로 거의 비슷한 리그닌 제거의 효과가 있는 것으로 나타났다. 리그닌의 제거율이 낮게 나타난 보릿짚이 벼짚에 비해 차 후 효소당화를 통한 낮은 글루코오스 전환율을 나타낼 것으로 예상할 수 있다. 이로써 보릿짚의 리그닌은 벼짚의 리그닌보다 구조적으로 더 강한 결합구조 및 결합력을 가지고 있음을 간접적으로 예상할 수 있고 위와 같은 구성 성분 변화의 결과를 보았을 때 NaOH 침지 반응 또한 벼짚의 반응조건보다 높은 반응조건을 필요로 함을 알 수 있다.

### 3-4. 전처리 후 SEM

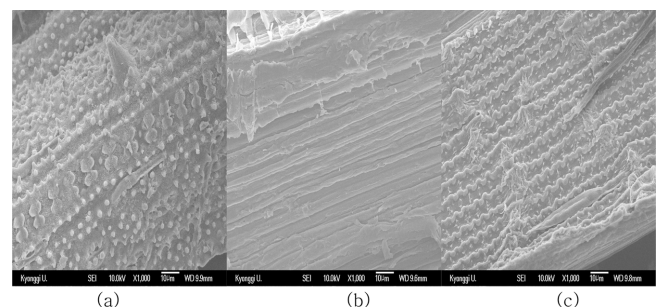
각 전처리 후 기질의 표면 변화와 물리적인 변화를 확인하기 위해 다음 그림과 같이 주사 전자 현미경(SEM; Scanning electron microscopy)을 이용하여 그 변화를 확인하였다(Fig. 1 & 2). 벼짚과 보릿짚 모두 암모니아 전처리 전, 후의 변화를 비교하였을 때 섬유소로 보이는 구조 주위의 회분과 리그닌 같은 불순물이 씻겨 내려간 것으로 보여졌으며, NaOH 반응 전, 후의 비교에 있어서는 불순물의 제거와 동시에 기질의 구조에서 swelling 효과가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 결론적으로 암모니아 전처리의 경우 용매에 잘 녹는 불순물들의

**Table 4. Composition changes of pretreated rice straw by NaOH**

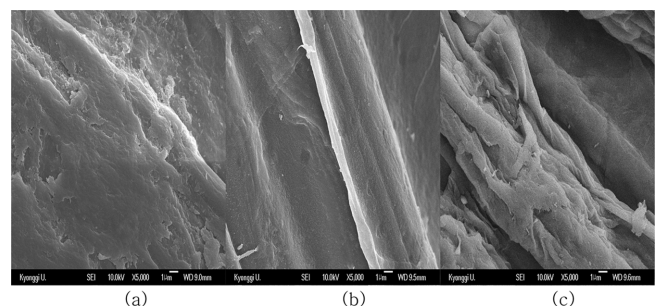
Component (%)	Rice straw	NaOH	After Hydrolysis	After Fermentation
Cellulose (Glucose)	39.88	37.72	8.16	7.97
Hemicellulose	22.12	6.20	0.72	0.48
Lignin	12.97	6.86	6.76	6.69
Ash	14.18	9.53	2.42	2.40
Moisture	7.56	5.20	1.56	1.62
Etc.	3.29	1.48	0.18	2.25
Total	100.00	67.00	19.80	21.40

**Table 5. Composition changes of pretreated barley straw by NaOH**

Component (%)	Barley straw	NaOH	After Hydrolysis	After Fermentation
Cellulose (Glucose)	41.60	38.95	16.17	16.02
Hemicellulose	19.16	9.72	1.43	1.33
Lignin	17.86	13.55	12.77	12.10
Ash	7.53	3.89	0.79	0.71
Moisture	9.48	4.70	2.32	2.69
Etc.	4.37	3.20	1.63	3.34
Total	100.00	74.00	35.10	36.20



**Fig. 1. SEM analysis of pretreated rice straw. (a) Untreated, (b) SAA pretreated, (c) NaOH pretreated.**



**Fig. 2. SEM analysis of pretreated barley straw. (a) Untreated, (b) SAA pretreated, (c) NaOH pretreated.**

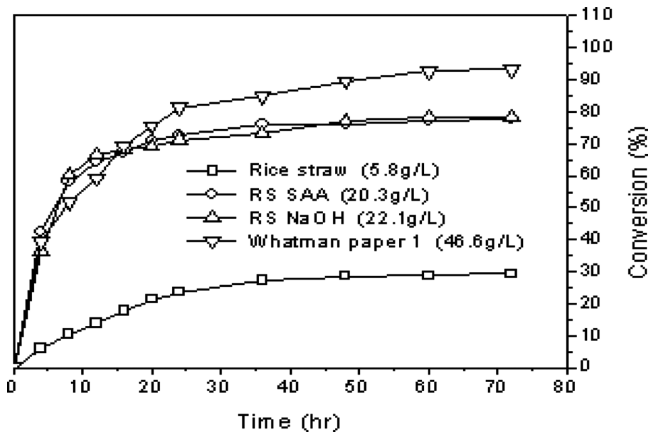


Fig. 3. The enzymatic digestibility of pretreated rice straw.

제거와 섬유질 노출 효과를 보였으며, NaOH 전처리의 경우는 높은 swelling 효과를 보였다[19]. 이는 염기 전처리가 리그닌 및 불순물의 제거로 효소당화에 있어 효소의 활성자리가 증가함을 알 수 있으며 이로써 효소당화를 통한 글루코오스 전환율이 높아 질 것으로 보여진다.

### 3-5. 전처리 후 효소당화

각 전처리에 따른 기질을 이용하여 Celluclast 1.5L와 Novozyme-188을 이용한 효소 당화를 통해 전처리에 의한 리그닌 제거 효과가 당화와 발효에 미치는 영향을 확인해 보았다. 벳짚의 각 전처리 후 효소당화의 결과를 다음 Fig. 3에 나타내었으며, 암모니아와 NaOH 전처리에 따른 리그닌 제거 후 효소당화를 통한 글루코오스 전환율 및 그 농도가 각각 77.83%(20.32 g/L), 78.37%(22.06 g/L)로 그 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 또한 벳짚의 경우 두 전처리 방법에 따른 효소당화에 있어 충분한 글루코오스의 전환이 일어난 필요 시간이 12 hr 정도로 긴 시간이 필요하지 않을 것으로 예상할 수 있고 이로써 효소의 투입량 역시 줄일 수 있을 것으로 보여진다. 위 효소당화 결과 벳짚에 있어서는 두 전처리 방법 모두 효과적인 전처리 방법으로 확인할 수 있었다.

다음은 보릿짚의 각 전처리 후 효소당화의 결과를 다음 Fig. 4에 나타냈다. 암모니아와 NaOH에 의한 리그닌 제거 후 효소당화를 통한 글루코오스 전환율 및 그 농도가 각각 64.78%(16.01 g/L), 58.49%

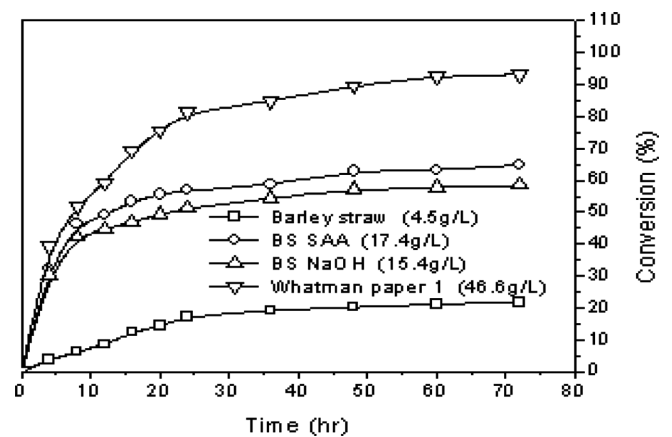


Fig. 4. The enzymatic digestibility of pretreated barley straw.

(15.39 g/L)로 다소 차이가 있는 것으로 나타났다. 이로써 보릿짚의 경우는 암모니아 전처리가 효소당화에 있어서는 좀더 유리한 전처리 방법임을 확인할 수 있었다. 반면 벳짚에 비해 보릿짚은 두 전처리 방법 모두 그 효과가 낮은 것으로 나타났지만 이는 벳짚의 전처리 최적 반응조건 아래에서 이루어 졌으므로 보릿짚의 경우 최적 반응조건이 벳짚보다 좀 더 높은 조건에서 결정될 것으로 보여진다. 이로써 보릿짚에 있어서는 암모니아 및 NaOH에 의한 전처리가 충분한 효과가 있는 것으로 볼 수 있다.

### 3-6. Mass balance

보릿짚을 이용한 각각의 전처리 후 효소당화 및 발효의 Mass balance를 살펴보면 우선 암모니아 전처리의 경우 암모니아 전처리를 통해 셀룰로오스는 8.24%, 리그닌은 29.10%이 추출되었고 효소당화를 통한 본래 보릿짚의 셀룰로오스 함유량 대비 글루코오스 전환율은 59.42%(24.72 g)로 나타났다. 이 후 발효를 통한 에탄올 생산 수율은 56.50%로 본래 전처리 전 보릿짚 100 g 기준으로 셀룰로오스 함유량인 41.60 g에서 13.35 g의 에탄올을 생산할 수 있었다(Fig. 5). 반면 NaOH 전처리를 통한 셀룰로오스의 손실은 6.37%, 리그닌의 제거율은 24.15%로 나타났으며, 이를 이용한 효소당화의 전처리 전 글루코오스 전환율은 54.76%(22.78 g)로 나타났다. 이 후 발효를 통한 에탄올 생산 수율은 52.56%로 전처리 전 보릿짚 100 g 기준으로 12.42 g의 에탄올을 생산하였다(Fig. 6).

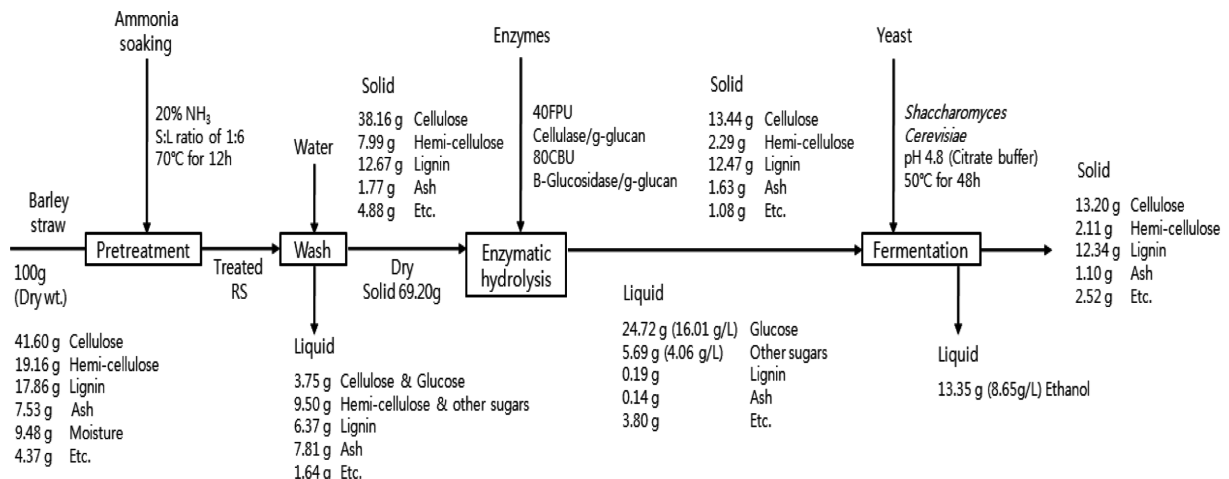


Fig. 5. Mass balance of the overall SAA process; including pretreatment, enzymatic hydrolysis and fermentation.

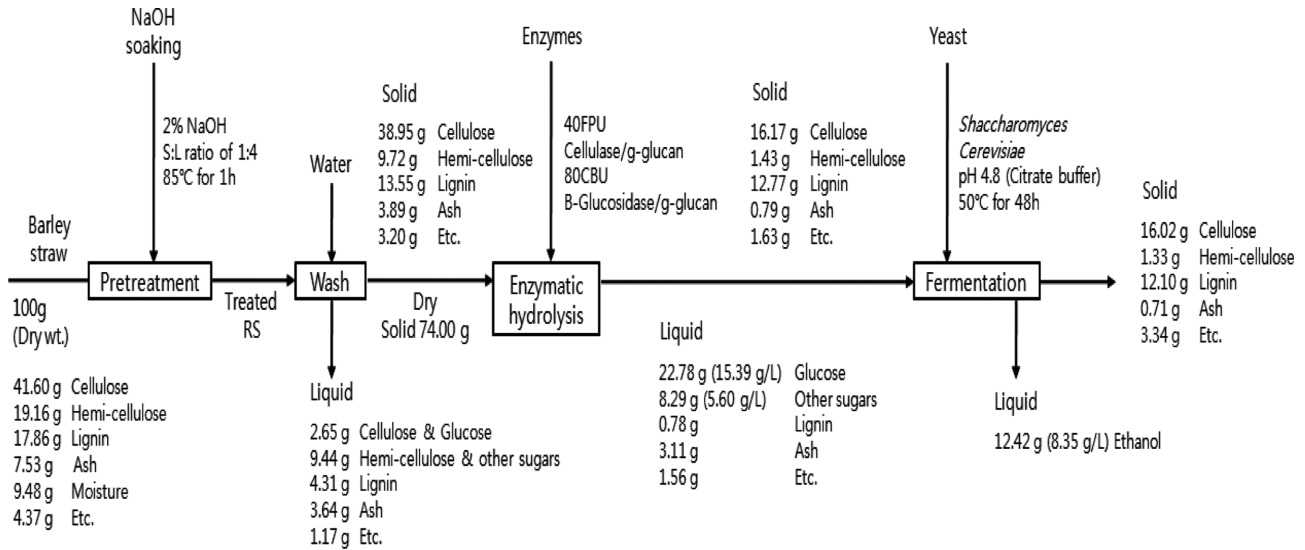


Fig. 6. Mass balance of the overall NaOH process; including pretreatment, enzymatic hydrolysis and fermentation.

#### 4. 결 론

본 논문에서는 염기 용매를 이용한 보릿짚에 대한 전처리 효과에 대하여 직 간접적으로 조사하였다. 암모니아 침지 반응과 NaOH 침지 반응에 따른 보릿짚의 전처리 효과는 볏짚과 비교하여 리그닌 제거율이 약 20~23% 정도 낮은 효과를 나타내었지만 실험에 적용된 반응조건이 볏짚의 최적 조건임을 감안하였을 때 염기 용매를 이용한 보릿짚의 전처리 또한 효율적인 리그닌 제거 효과가 일어난 것으로 보여진다. 또한 이를 통해 염기 용매를 사용한 보릿짚의 전처리 조건이 볏짚의 최적 조건보다 다소 높은 조건에서 결정되어 질 것으로도 예상할 수 있었다. 전처리 후 당화와 발효에 있어서도 암모니아 침지 반응에 의한 전처리 후 기질 기준으로 글루코오스 전환율이 64.78%(16.01 g/L)로 볏짚보다 낮은 리그닌 제거율을 나타내었음에도 불구하고 비교적 높은 전환율을 나타내었다. 에탄올 수율 역시 56.60%(8.65 g/L)로 비교적 높은 수율을 나타내었다. 이로서 보릿짚은 염기 전처리를 통한 리그닌 제거가 유용하고 전처리 후 발효물질 생산 가능량 생산 및 발효물질 생산에도 매우 유리한 기질임을 확인할 수 있었고 반면 보릿짚의 전처리에 있어서는 염기 용매를 사용함으로써 높은 효과를 얻을 수 있다는 결과를 얻었다.

#### 감 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(309016-5)에 의해 이루어진 것입니다.

#### 참고문헌

1. Lee, J. K. and Bransby, D., "Biofuel Industry and Recent Research in USA. *J. Kor. Grass. Forage Sci.*, **28**(2), 129-138(2008).
2. Hahn-Hagerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Graulund, M. F. and Liden, G. and Zacchu, G., "Bioethanol- the Fuel of Tomorrow from Residues of Today," *Trend Biotechnol.*, **24**, 549-556(2006).
3. Chung, C. H., "Cellulosic Ethanol Production," *Korean J. Bio-*

- technol. Bioeng.*, **23**(1), 1-7(2008).
4. Ahn, D. and Chang, H. N., "Liquefaction and Saccharification of Starch Using  $\alpha$ -amylase and Immobilized Glucoamylase," *Microbiol. Biotechnol.*, **19**(5), 497-503(1991).
5. Ratnam, B. V. V., Rao, M. N., Rao, M. D. and Ayyanna, C., "Optimization of Fermentation Conditions for the Production of Ethanol from Sago Starch Using Response Surface Methodology," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 523-526(2003).
6. Birol, G., Onsan, Z. I., Kirdar, B. and Oliver, S. G., "Ethanol Production and Fermentation Characteristics of Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* Strains Grown on Starch," *Enzym. Microbiol. Technol.*, **22**, 672-677(1998).
7. Zhao, H., Kwak, J. H., Zhang, C., Brown, H. M., Arey, B. W. and Johnathan, E. H., "Studying Cellulose Fiber Structure by SEM, XRD, NMR and Acid Hydrolysis," *Carbohydr. Sci. Direct*, **68**, 235-241(2006).
8. Shigechi, H., Koh, J., Fujita, Y., Matsumoto, T., Bito, T., Ueda, M., Satoh, E., Fukuda, H. and Kondo, A., "Direct Production of Ethanol from Raw Corn Starch via Fermentation by Use of Novel Surface-Engineered Yeast Strain Codisplaying Glucoamylase and  $\alpha$ -Amylase," *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**(8), 5037-5040(2004).
9. Keith, C., Economic Issues related to bio fuels; a written testimony for field hearing (Aug. 26, 2006), U.S. senate committee on agriculture, rural development, and related agencies(2006).
10. National Renewable Energy Laboratory, Standard Biomass Analytical Procedures. [http://www.nrel.gov/biomass/analytical\\_procedures.html](http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html).
11. Ko, J. K., Bak, J. S., Jung, M. W., Lee, H. J., Choi, I.-G., Kim, T. H. and Kim, K. H., "Ethanol Production from Rice Straw Using Optimized Aqueous-ammonia Soaking Pretreatment and Simultaneous Saccharification and Fermentation Processes," *Bioresour. Technol.*, **100**, 4374-4380(2009).
12. Na, J. B. and Kim, J. S., "The Optimum Condition of SSF to Ethanol Production from Starch Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **46**(5), 858-862(2008).
13. Zhang, Q. Z. and Cai, W. M., "Enzymatic Hydrolysis of Alkali-pretreated Rice Straw by *Trichoderma reesei* ZM4-F3," *Biomass*

- Bioenergy*, **32**, 1130-1135(2008).
14. Azzam, A. M., "Pretreatment of Cane Bagasse with Alkaline Hydrogen Peroxide for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose and Ethanol Fermentation," *J. Environ. Sci. Health. B*, **24**, 421-433(1985).
  15. Kim, J. S., "Bio-ethanol Production from Waste Oak Wood Biomass by Ammonia Pretreatment," *Theor. Appl. Chem. Eng.*, **12**(2), 1419-1422(2006).
  16. Ghose, T. K., "Measurement of Cellulase Activities", *Pure Appl. Chem*, **59**, 257-268(1987).
  17. Murai, T., Yoshino, T., Ueda, T., Haranoya, I., Ashikari, T., Hajime, S., Yoshizumi, A., Tanaka, A., "Evaluation of the Function of Arm-  
ing Yeast Displaying Glucoamylase on Its Cell Surface by Direct Fermentation of Corn to Ethanol," *J. Ferment. Bioengineer*, **86**(6), 569-572(1998).
  18. Kim, K.-S. and Kim, J. S., "Optimization of Ammonia Percolation Process for Ethanol Production from Miscanthus Sinensis," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **48**(6), 704-711 (2010).
  19. Bak, J. S., Ko, J. K., Han, Y. H., Lee, B. C., Choi, I. G. and Kim, K. H., "Improved Enzymatic Hydrolysis Yield of Rice Straw Using Electron Beam Irradiation Pretreatment," *Bioresour. Technol*, **100**, 1285-1290(2009).