

향상된 가수분해율을 얻기 위한 전자선 조사와 물찜의 복합 전처리공정을 이용한 케냐프 코어 전처리

이진영 · 이병민 · 전준표[†] · 강필현

한국원자력연구원 공업환경연구부
580-185 전북 정읍시 금구길 29
(2013년 8월 12일 접수, 2013년 11월 1일 수정본 접수, 2013년 11월 7일 채택)

Pretreatment of Kenaf Core by Combined Electron Beam Irradiation and Water Steam for Enhanced Hydrolysis

Jin-Young Lee, Byoung-Min Lee, Joon-Pyo Jeun[†] and Phil-Hyun Kang

Research Division for Industry & Environment, Korea Atomic Energy Research Institute,
29 Geungu-gil, Jeongeup-si, Jeonbuk 580-185, Korea
(Received 12 August 2013; Received in revised form 1 November 2013; accepted 7 November 2013)

요 약

케냐프 코어 전처리를 위하여 전자선 조사와 물찜이 결합된 복합 전처리공정에 대해 연구하였다. 각 시료는 50에서 1,000 kGy까지의 선량으로 조사한 후, 오토클레이브를 이용하여 120 °C에서 5시간 동안 물찜처리를 하였다. 적외선 분광기와 X선 회절 분석기를 사용하여 전처리 되지 않은 시료와 전처리된 시료의 분자 구조와 결정도 변화를 분석하였다. 전처리 되지 않은 시료의 결정화도 지수는 50.6%에서 500 kGy 조사된 시료는 55.0%로 증가함을 알 수 있었다. 그 다음, 전처리된 시료에 비활성도 70 FPU/mL, 40 CBU/mL의 효소를 주입하여 생산된 당당류 총합으로 당화율을 구하였다. 이 때 효소 가수분해 시간은 24, 48, 72시간으로 하였다. 500 kGy로 조사된 시료의 72 시간 가수분해 후 당화율은 83.9%로 가장 높게 나타났고, 전처리된 시료의 당화율은 조사량 증가에 따라 100 kGy에서 50.8%, 200 kGy에서 58.6%, 300 kGy에서 67.9%로 각각 증가하였다.

Abstract – We have investigated the combined pretreatment of electron beam irradiation (EBI) and water steam as a kenaf core pretreatment process. After each sample was exposed to electron beam dose ranging from 50 to 1,000 kGy, the irradiated sample was treated by water steam using an autoclave for 5-h at 120 °C. The pretreated samples were characterized using FTIR-ATR and XRD. FTIR spectra and XRD analysis of nonpretreated and pretreated samples confirm that crystallinity changes were observed before and after the pretreatment. The crystallinity index (CrI) was increased from 50.6% for nonpretreated sample 55.0% for 500 kGy exposed sample. And then, we analyzed sugar yield that is the amount of produced mono-saccharides in pretreated sample by enzymatic hydrolysis; an enzyme activity rate was 70 FPU/mL and 40 CBU/mL, and the loading time was 24, 48 and 72-h. The highest sugar yield was 83.9% at 500 kGy after 72-h for enzymatic hydrolysis. The sugar yield of enzymatic hydrolysis for pretreatment samples was increased as doses are subsequently changed to 100, 200 and 300 kGy, allowing to give 50.8%, 58.6% and 67.9%, respectively.

Key words: Lignocellulose, Pretreatment, Electron Beam, Enzymatic Hydrolysis, Sugar Yield

1. 서 론

최근 신재생, 친환경 에너지 수요가 급격하게 증가하고 있어 목질계 바이오매스(lignocellulose biomass)를 이용한 효과적인 바이오 에너지 생산을 위한 요구가 끊임없이 이어지고 있다[1]. 목질계 바이오매스는 숲, 농경지 그리고 우리 주변에서 흔히 볼 수 있는 풍

부한 물질이지만, 각 성분이 물리·화학적으로 복잡하게 결합되어 있어 바이오매스의 표면 기공을 감소시켜 미생물 또는 효소의 침투를 어렵게 하고, 결과적으로 가수분해에 의한 당 생성율을 현저하게 감소시키는 것으로 알려져 있다[2,3]. 그렇기 때문에 목질계 바이오매스의 가수분해 및 당화율의 증가를 위한 전처리 공정은 필수적이다[4]. 현재 목질계 바이오매스에 대한 생물학적, 물리·화학적 전처리는 구조적 특성과 화학적 조성을 변화시켜 리그닌(lignin)과 헤미셀룰로오스(hemicellulose)는 제거하고 셀룰로오스(cellulose) 구조의 결정성을 감소시켜 각종 반응물에 대한 접근성을 향상시킬 수 있기 때문에, 최근 연구는 목질계 바이오매스의 전체적인 구조 특성의 변

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jpjeun@kaeri.re.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

경을 위한 효율적인 전처리 방법의 개발에 중점이 맞춰져 있다[5,6]. 게다가, 전처리 공정의 다양성은 바이오 연료와 같은 최종 생산품을 더 효율적으로 생산하기 위한 복합 처리공정 설계를 더욱 유연하게 해준다[7].

현재 대표적인 전처리 공정으로는 산(acid, dilute acid), 염기처리(alkali)와 증기폭쇄(steam explosion)법이 있다. 산 또는 염기를 이용한 화학적 전처리 공정은 약 70~80%에 달하는 높은 당 수율을 얻을 수 있는 장점이 있는 반면, 반응물에 대한 장치 부식과 반응물 구입비용으로 인한 공정 유지관리 비용 상승 그리고 독성물질 사용으로 인하여 환경오염을 야기한다[8]. 증기폭쇄에 의한 전처리는 헤미셀룰로오스 제거 및 리그닌 제거에 유용한 공정이나 결정적으로 리그닌과 탄수화물 간의 결합을 효과적으로 분해하지 못하고 공정 수행에 필요한 에너지 소모가 크게 되어, 결과적으로 친환경 에너지 생산이라는 측면에 부합하지 못한다는 단점이 있다[9].

따라서 기존의 전처리 공정을 대체할 수 있는 친환경 에너지 생산을 위해 하나의 전처리 공정을 두 가지 이상 접목한 복합 전처리 공정에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다[10-12]. 전자선 조사에 의한 전처리 공정은 소규모, 자동화·연속공정 그리고 처리 과정이 간단하고 소요되는 시간이 적어 복합 처리공정에 적용이 쉬우며, 조사선량에 따른 바이오매스의 셀룰로오스 결정화도 및 고분자 중합도 감소에 높은 효과를 보인다[12-14]. 그리고 물찜 전처리는 어떠한 촉매나 화학물질 사용 없이 물의 온도(120~180 °C)만으로 목질계 바이오매스를 처리하는 공정법이다[15]. 헤미셀룰로오스와 리그닌을 부분적으로 단분자화 시키는 효과가 있으며, 셀룰로오스 내 결합을 분해하여 반응표면적을 증가에 우수한 효과를 보여준다[16]. 이 외에도 셀룰로오스 손실, 한정된 반응기 부식, 슬러지 발생, 독성물질 발생 그리고 유지관리 비용 측면에서 기존 처리 공정에 비해 우수한 장점을 가지고 있다[17]. 그러나 Table 1에서 보여 지듯이 이들 두 가지 단일 처리 공정은 바이오매스 내 셀룰로오스 함량 대비 당 생성율이 현저하게 낮다는 단점이 있어 널리 이용되지 못하는 공정 기술이다. 기존의 연구에서 이루어지지 않은 전자선 조사와 물찜을 전처리 공정을 케냐프 코어에서의 당 생성율을 향상시키기 위한 복합 전처리 공정으로 선택 적용하였다[18-21].

따라서, 본 연구에서는 기존의 연구에서 이루어지지 않은 전자선 조사와 물찜을 전처리 공정을 케냐프 코어에서의 당 생성율을 향상시키기 위한 복합 전처리 공정으로 선택 적용하여 물리·화학적 특성을 분석하였고, 전처리된 시료에 일정 시간 동안 효소 가수분해를 실시하여 공정의 효율성을 확인하였다.

2. 실험

2-1. 재료

본 연구에 사용된 케냐프 코어는 500 μm 이하의 크기로 분쇄 후, 40 °C의 오븐에서 7일 동안 건조하여 사용하였다. 원 시료의 화학적

조성은 45.1%의 셀룰로오스, 23.4%의 헤미셀룰로오스, 18.8%의 리그닌 그리고 기타 물질들로 구성되어 있으며, 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 육종시험 농장으로부터 공급받아 사용하였다. 효소 당화를 위하여 비활성도 700 Filter Paper Unit(FPU)/mL의 Celluclast 1.5L(Cellulase, Novo Co. Denmark)과 비활성도 400 Cellobiose Unit(CBU)/mL Novozyme-188(β -glucosidase, Novo Co. Denmark)를 사용하였다. 이 효소들은 시그마알드리치(Sigma-Aldrich Co., USA)로부터 구입 후 4 °C 이하에서 냉장보관하여 사용하였다.

2-2. 전처리

2-2-1. 전자선 조사(electron beam irradiation)

500 μm 이하로 잘게 분쇄된 케냐프 코어는 알루미늄 백에 2.5 MeV 전자선이 균일하게 조사될 수 있는 최대 두께인 0.5 cm로 균일하게 넣어 질소 주입 후 밀봉하여 보관하였다. 준비된 시료는 선형전자선 가속기(ELV-8 type, EBtech Co., Korea)를 사용하여 2.5 MeV, 25 mA의 조건에서 10 m/min의 컨베이어 이동속도로 25 kGy/scan으로 선량을 유지한 후 전처리 공정을 진행하였다. 이 때 흡수선량은 50 kGy에서 1,000 kGy까지 조사하였다.

2-2-2. 물찜(water steam)

전자선 조사된 시료를 각각 5 wt%(W/V)가 되도록 증류수에 넣고 오토클레이브(AC-12, Jeio-Tech Co. Korea)를 사용하여 물찜 처리를 하였다. 이 때 120 °C에서 180 °C까지의 가수분해 효과가 미비한 것으로 보고되어 있어 처리 온도는 120 °C로 하였고 처리 시간은 승온 시간을 포함한 5시간으로 하였다[22]. 물찜 처리가 끝난 후, Whatman No.1 여과지를 이용한 감압여과 및 세척을 실시하였고, 불순물이 완전히 세척된 잔류물은 40 °C의 오븐에서 7일 동안 건조하여 수분을 완전히 제거하였다.

2-3. 효소 가수분해

전처리된 시료의 효소에 의한 가수분해 공정은 미국 신재생에너지연구원(NREL)의 표준 분석법을 바탕으로 하여 실시하였다[23]. 마개가 있는 시험관에 전처리된 시료 0.15 g과 구연산 나트륨 버퍼 용액 5 mL(0.1 M sodium citrate buffer solution, pH 4.8)을 함께 주입하였다. 효소 가수분해를 위한 효소 Cellulase 70 FPU/mL와 β -glucosidase 40 CBU/mL를 차례대로 첨가하고 전체부피가 10 mL가 되도록 증류수를 채워 시험관 마개를 밀봉하였다. 효소 가수분해 처리 시간은 24, 48, 72시간으로 하여 50 °C에서 진탕향온수조(shaking water bath, Jeio-Tech Co. Korea)에 넣고 150 rpm으로 교반하였다[24].

2-4. 분석방법

전처리된 시료 내 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 그리고 리그닌과 같은 화학적 구성요소들의 함량은 NREL의 표준 분석법과 종이 펄

Table 1. The cellulose content and glucose yield in common lignocellulose by various pretreatment

Feed stock	Pretreatment	Cellulose (%)	Glucose yield (%)	Reference
Industrial hemp	EBI-450 kGy	35	35	[18]
Peanut husk	EBI-500 kGy	48	20	[19]
Kenaf stem	200 °C water with CO ₂	53	51	[20]
Corn stover	120 °C water	37	16	[21]
Corn stover	180 °C water	37	20	[21]

프에 관한 TAPPI 시험법(TAPPI standards and suggested methods)에 의거하여 수행하였다[25].

당화액 내 생성된 단당류와 당화 억제제 분석은 시험관 내 당화액의 상층액을 0.2 μm 시린지 필터로 채취하여 고성능액체크로마토그래피(HPLC, Shimadzu Co. Japan)로 분석하였다. 당 분석에 사용된 컬럼은 Aminex HPX-87P column(Bio-Rad, Richmond, CA, USA)이고 온도는 65 $^{\circ}\text{C}$ 로 설정하였으며, 검출기는 410 refractive index detector(RI detector, USA)를 사용하였다. 이동상은 HPLC 분석용 고순도 물(B&J HPLC grade, SK chemical, Korea)을 사용하였으며 유속은 0.6 mL/min이었다.

전처리 된 시료의 물리적 특성 변화는 적외선 분광기의 전반사 측정법(FTIR-ATR, Bruker Vertex 70 spectrometer, Germany)을 이용하여 4,000–400 cm^{-1} 사이 파장에 대한 흡광도를 분석하였다. 시료 내 결정성은 X선 회절분석기(X'pert Powder, PANalytical, Netherlands)를 이용하여 5–50 $^{\circ}$ 범위에서 주사속도 1 $^{\circ}$ /min, 0.03 $^{\circ}$ 간격으로 측정하였다. 각 시료의 결정성 데이터는 Segal법(Eq. (1))에 적용되어 결정화 지수(crystallinity index, CrI)로 표현할 수 있다. 여기서 $I_{\text{crystalline}}$ 은 $2\theta=22\text{--}22.5^{\circ}$ 의 결정성 영역, $I_{\text{amorphous}}$ 는 $2\theta=18^{\circ}$ 의 비결정성 영역의 강도(intensity)를 나타낸다[26].

$$\text{Crystallinity index (CrI, \%)} = \frac{I_{\text{crystalline}} - I_{\text{amorphous}}}{I_{\text{crystalline}}} \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3-1. 전처리에 의한 성분 변화

전자선 조사를 마친 케냐프 코어 분말 5 wt%(w/v)를 증류수에 넣어 120 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5시간 동안 물점 처리를 하였다. 반응이 끝난 시료는 뷰흐너 깔대기(Buchner funnel)를 이용하여 감압여과를 실시하였으며 물로 깨끗하게 세척하여 40 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에 보관, 건조하여 사용하였다. Table 2에 전자선 조사선량에 따른 시료의 성분 변화를 정리하였다. 조사선량이 증가할수록 헤미셀룰로오스는 23.4%에서 20.1%로, 리그닌은 18.8%에서 16.0%로 소량 감소하였다. 그러나 셀룰로오스의 함량은 전자선을 조사하지 않은 경우 45.1%에서 500 kGy로 조사된 시료의 경우 53.8%로 증가하였으며, 이에 따른 당화율은 36.9%에서 83.9%로 증가하였다. 본 연구에서 실시한 전처리 공정은 산, 염기와 같은 화학적 전처리에 비해 헤미셀룰로오스, 리그닌 제거 효과가 현저히 떨어지는 것으로 나타났으나 500, 1,000 kGy 조사선량에서 당화율은 각각 83.9, 84.0%에 도달하여 같은 케냐프를 이용한 기존의 전처리 공정인 열처리 77.4%, 알칼리처리 44.1% 그리고 산처리 41.7% 보다 우수한 당화율을 보였다[27,28]. 이러한 결과는 전처리 공정에 의해 시료 내 구성 성분들의 분자 구조에 영향을 미치는 것으로 보인다.

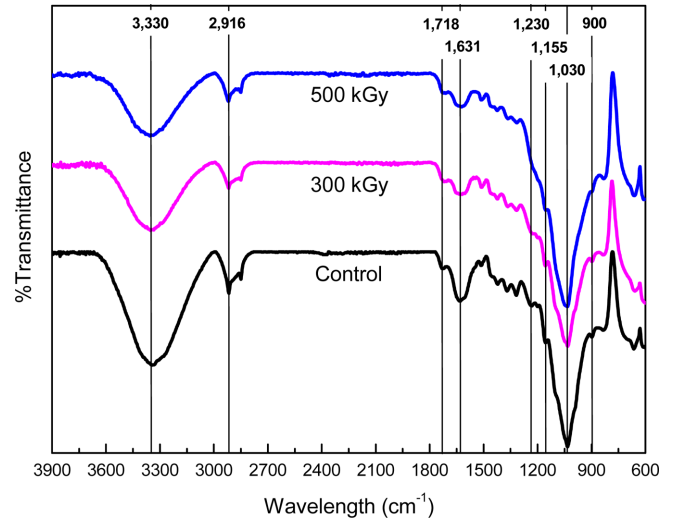


Fig. 1. FTIR spectra of control and pretreated kenaf core.

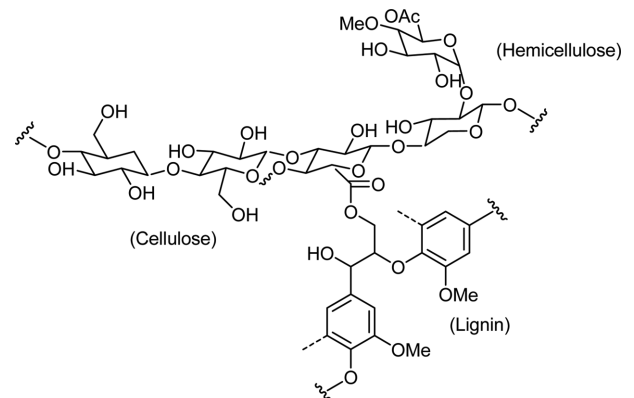


Fig. 2. Structure of polysaccharides-lignin complex linkage.

3-2. 전처리에 의한 물리적 특성 변화

전자선 조사량 증가에 의한 시료의 물리적 특성 변화는 적외선 분광기의 전반사 측정법(FTIR-ATR)과 X선 회절분석기를 이용하여 분석하였다. 적외선 분광기를 이용한 전처리 전 및 후 시료에 대한 파장은 Fig. 1에 표시하였고, 물리적 구조 변화에 대한 이해를 돕기 위해 Fig. 2에 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 그리고 리그닌 간 결합 구조를 나타내었다[2,29,30]. 주요 파장과 각 파장에 대한 간단한 정보를 Table 3에 정리하였다. Fig. 1에서 보여 지듯이 전처리 공정에 의한 파장변화는 전체적으로 3,330, 2,916, 2,000–700 cm^{-1} 에서 나타남을 알 수 있다. 이 중 3,330, 2,916 그리고 1,200–900 cm^{-1} 은 모두 셀룰로오스에 의해 나타나는 파장으로 3,330 cm^{-1} 은 O-H 수소결합, 2,916 cm^{-1} 은 메틸렌(methylene) 내 C-H 결합을 나타내며 [31], 셀룰로오스의 결정성 변화를 알 수 있는 가장 중요한 파장으

Table 2. Composition of the pretreated kenaf core after the combined pretreatment process

EBI dose (kGy)	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)	Sugar yield (%)
0	45.1	23.4	18.8	36.9
50	46.9	23.0	18.1	46.1
100	48.2	22.2	17.8	50.8
200	50.1	21.7	17.1	58.6
300	51.6	20.8	16.7	67.9
500	53.8	20.1	16.0	83.9

Table 3. Characteristics of absorption band in FTIR spectra of pretreated kenaf core

Absorbance band (cm ⁻¹)	Assignment	Functional group
3,330	Cellulose	O-H stretching (hydrogen bond)
2,916	Cellulose	C-H stretching (methylene group)
1,718	Hemicellulose	C=O ester linkage (acetyl group)
1,631	Lignin	C=O ester linkage (alkyl group)
1,516	Lignin	C=C carbonyl linkage (aromatic ring)
1,425	Lignin	C-H deformation (methoxyl group)
1,367	Lignin	Guaiacyl ring
1,315	Lignin	Guaiacyl ring
1,230	Hemicellulose	C=O ester linkage (acetyl group)
1,155	Cellulose	C-O-C stretching (glycosidic bond)
1,030	Cellulose	C-O-H (primary, secondary alcohol)
900	Cellulose	C-O-C (β -(1,4)-glycosidic bond)

로서 C-O-C 글루코시딕 결합(C-O-C glycosidic bond)과 β -1,4 글루코시딕 결합(β -1,4-glycosidic bond)은 각각 1,155과 900 cm⁻¹에서 두드러진다[32]. 위의 4개 파장의 흡광도는 전처리 후에 모두 약화되어, 복합 전처리 공정이 셀룰로오스의 결정성을 분해하는데 매우 효과적임을 알 수 있게 해주는 결과이다. 조사선량이 300 kGy에서 500 kGy로 증가하는 과정에서 나타나는 1,030 cm⁻¹ 피크의 증가는 시료 내 셀룰로오스의 상대적인 증가에 기인한 것으로 예상할 수 있다[33]. 1,718과 1,230 cm⁻¹에 해당하는 파장은 헤미셀룰로오스에 존재하는 아세틸기(acetyl group) 내 -CO-O- 에스테르 결합(ester bond)에 대한 파장으로서 전처리 공정의 선량 증가에 따라 눈에 띄게 감소하는 경향을 보였다. 특히 1,718 cm⁻¹는 전처리된 시료에 잔존하는 헤미셀룰로오스 또는 리그닌, 헤미셀룰로오스 간의 결합을 동시에 나타내는 것으로도 알려져 있다[34]. 리그닌은 무정형 고분자로서 세 가지 페놀화합물 단량체 *p*-coumaryl alcohol(4-hydroxyphenyl), coniferyl alcohol(guaiacyl), sinapyl alcohol(syringyl)의 결합으로 이루어져 있으며 목질계 바이오매스의 세포벽을 형성한다[35]. 1,500~1,400 cm⁻¹는 syringyl, 1,400~1,300 cm⁻¹는 바이오매스 내 탄수화물과의 결합에 관여하는 guaiacyl에 대한 파장이다[36]. 그리고 1,631 cm⁻¹는 리그닌 결사슬에 존재하는 알킬기(alkyl group)의 C=O 결합에 대한 파장으로 알려져 있다[37]. 리그닌에 대한 파장 역시 감소하는 경향을 보였다.

시료 내 성분의 분해에 따른 결정성 변화를 분석하기 위해 X선 회절분석기를 이용하여 결정영역(2 θ =22~22.5°)과 무정형영역(2 θ =18°)을 분석하였다. 일반적으로 순수한 셀룰로오스에 대한 전자선 조사의 효과는 셀룰로오스의 분자량과 결정화지수의 감소로 이어진다고 알려져 있다[14]. 그러나, Table 4에서 보여지듯 전자선 조사선량 증가에 따라 결정화지수(crystallinity index)는 전처리되지 않은 시료에서 50.6%, 500 kGy로 조사된 시료는 55.0%로 조사선량 증가에 따라 4.45%가 증가하였다. 이는 셀룰로오스 외 여러 가지 성분으로 구성되어 있는 시료에서 나타나는 복합적인 결과로서, 전처리에 의해 셀룰로오스의 결정영역이 분해됨과 동시에 일부 무정형 영역의 분해 그리고 무정형 고분자인 헤미셀룰로오스와 리그닌의 제거에 기인한 결과이다[38,39].

3-3. 전처리에 의한 효소 가수분해

바이오매스 내 존재하는 다당류가 전처리에 의해 단당류로 분해되는 과정에서 당화 억제제가 필연적으로 발생된다. 이는 고온 및 산처리 과정에서 발생하는 것이 일반적이며, 대표적으로 푸르푸랄(furfural)과 하이드록시메틸푸르푸랄(HMF)이 있다. 기존 연구에서 200 °C의 증기폭쇄를 이용한 공정에서는 푸르푸랄은 약 20%, 하이드록시메틸푸르푸랄은 약 3%가 발생하였고, 묽은산(dilute acid)처리 공정에서는 이상 발생하였고 각각 약 40%, 15%이 발생하였다[40,41]. 그 반면, 전자선 처리에서는 거의 발생하지 않는 것으로 보고되었다[13]. 전자선과 상대적으로 저온 처리를 이용한 본 연구의 복합 전처리 공정에서는 전처리 조건에 관계없이 당화 억제제는 검출되지 않거나 거의 발생하지 않는 것으로 분석되었다.

Fig. 3에는 전처리 공정의 전자선 조사선량에 따른 당화율과 당의 성분 변화를 도시하였다. 효소 가수분해 72시간 후, 전처리되지 않은 시료의 당화율은 약 36.9% 그리고 100, 200, 300, 500, 1,000 kGy에서 당화율은 각각 50.8, 58.6, 67.0, 83.9, 84.5%로 분석되었다. 조사선량 증가에 따라 당화율은 선형으로 증가하였으나

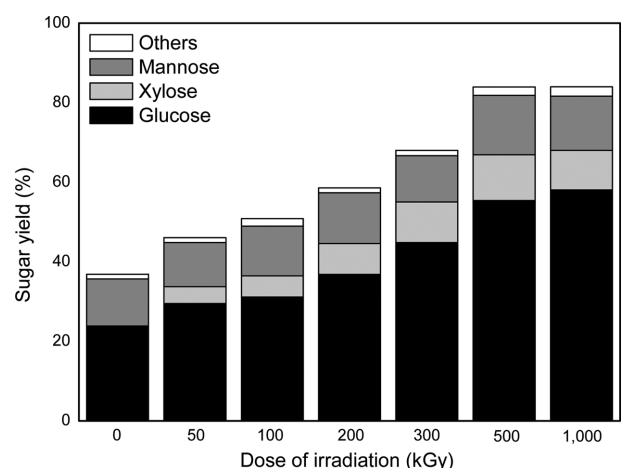


Fig. 3. Sugar yield in control and pretreated kenaf core samples exposed to 0, 50, 100, 200, 300, 500, 1,000 kGy of EBI after 72 h of hydrolysis.

Table 4. Crystallinity index of pretreated kenaf core

Crystallinity parameter	Control	EBI-100	EBI-200	EBI-300	EBI-500
Crystallinity index(%)	50.6	53.8	54.2	54.7	55.0

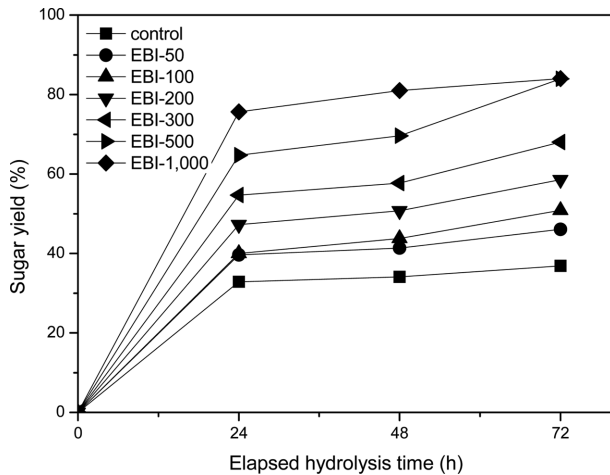


Fig. 4. Sugar yield of the kenaf core samples exposed to 0, 50, 100, 200, 300, 500, 1,000 kGy of EBI as a function of elapsed hydrolysis time.

500 kGy 이상에서는 당화율의 증가는 거의 나타나지 않음을 알 수 있다. 또한 1,000 kGy에서 글루코스(glucose)의 당화율은 계속 증가한 반면, 헤미셀룰로오스에 해당하는 자일로스(xylose)의 당화율은 11.5%에서 9.9%로, 만노스(mannose)는 14.9%에서 13.6%로 감소하는 것으로 나타났다. 이는 높은 선량의 전자선 조사에 의해 무정형 고분자인 헤미셀룰로오스의 단분자화가 가속된 것으로 보여진다.

Fig. 4에는 조사선량에 따라 효소 가수분해 시작 후, 24, 48, 72시간마다 시료를 채취하여 당화율 변화를 나타내었다. 앞서 설명하였듯이 전처리 되지 않은 시료의 효소 가수분해 시간에 따른 당화율은 약 32.8%에서 36.9%로 거의 증가하지 못한 반면에, 500 kGy로 전처리된 시료의 당화율은 24, 72시간에서 각각 64.7, 83.9%를 보이며 19% 이상 증가하였다. 그러나, 1,000 kGy에서는 다시 효소 가수분해 시간에 따른 당화율 증가는 약 10%로 감소하였는데, 이는 전처리 되지 않은 시료와는 달리 전처리에 의해 시료 내 분자 구조가 분해되어 효소 가수분해의 효과가 극대화된 것으로 보여진다. 기존 연구에서 단일 전처리 공정으로 적용하였을 때의 당화율은 전자선 처리에서 약 50%, 물짐 전처리 공정은 약 45%였다[42,43]. 위 결과들은 효율이 낮은 단일 처리 공정을 결합함으로써 우수한 당화율을 얻을 수 있어 새로운 복합 전처리 공정 개발의 가능성을 보여주었다.

4. 결 론

본 연구에서는 목질계 바이오매스 중 케냐프 코어에 대한 효소 가수분해율의 향상을 위해 친환경 전처리 공정인 전자선 조사와 물짐 전처리 공정을 차례대로 수행하였다. 공정 조건에 따른 물리·화학적 특성을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

(1) 전자선 조사선량이 증가함에 따라 헤미셀룰로오스, 리그닌 성분은 제거되었다. 시료 내 상대적인 셀룰로오스 함량은 전자선을 조사하지 않은 경우 45.1%였으나 500 kGy로 조사된 시료에서 53.8%로 증가하였으며, 당화율은 위 조건에서 36.9%에서 83.9%로 47% 향상되었다.

(2) 전자선 조사선량 증가에 따라 결정화 지수가 50.6%에서 55.0%로 증가하였다. 당화율 결과에서 보여 지듯이 셀룰로오스의 결정영역이 일부 분해됨과 동시에 헤미셀룰로오스와 리그닌의 무정

형 영역 또한 분해되어 나타나는 결과이다.

(3) 조사선량과 관계없이 당화 억제제는 거의 발생하지 않았으며, 조사선량 500 kGy에서 효소 가수분해 24시간 후 당화율은 64.7%이고 72시간 후 당화율은 약 83.9%에 도달하였다. 전처리에 의한 시료 내 결정성 감소와 리그닌, 헤미셀룰로오스의 제거로 인해 효소 가수분해에 의한 당화율이 극대화 된 것으로 판단된다.

(4) 기존 물리·화학적 전처리 대비 더 우수한 당화율을 달성하여 친환경 에너지 개발 공정으로서의 적합성을 확인하였다.

감 사

본 연구는 한국원자력연구원 기본연구사업 연구비 지원을 통하여 수행되었기에 이에 감사드립니다.

References

- Shrestha, R. K., Hur, O. S. and Kim, T. H., "Pretreatment of Corn Stover for Improved Enzymatic Saccharification Using Ammonia Circulation Reactor (ACR)," *Korean Chem. Eng. Res.(HWA-HAK KONGHAK)*, **51**, 335-341(2013).
- Knauf, M. and Moniruzzaman, M., "Lignocellulosic Biomass Processing," *Persp. Int. Sugar J.*, **106**, 147-150(2004).
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z. and Heinze, T., "Hemicellulose," *Adv. Polym. Sci.*, **186**, 1-67(2005).
- Sánchez, Ó. J. and Cardona, C. A., "Trends in Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks," *Biore-sour. Technol.*, **99**, 5270-5295(2008).
- Zhu, Y. J., Pan, X. J., Wang, G. S. and Gleisner, R., "Sulfite Pretreatment (SPORL) for Robust Enzymatic Saccharification of Spruce and Red Pine," *Biore-sour. Technol.*, **100**, 2411-2418(2009).
- Zheng, Y., Pan, Z. and Zhang, R., "Overview of Biomass Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production," *Int. J. Agric. Biol. Eng.*, **2**, 51-68(2009).
- Guo, B., Zhang, Y., Ha, S. J., Jin, Y. S. and Morgenroth, E., "Combined Biomimetic and Inorganic Acids Hydrolysis of Hemicellulose in Miscanthus for Bioethanol Production," *Biore-sour. Technol.*, **110**, 278-287(2012).
- Carter, B., Squillace, P., Gilcrease, P. and Menkhaus, T. J., "Detoxification of Lignocellulosic Biomass Slurry by Soluble Polyelectrolyte Adsorption for Improved Fermentation Efficiency," *Biotechnol. Bioeng.*, **108**, 2053-2060(2011).
- Limayem, A. and Ricke, S. C., "Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production-Current Perspectives, Potential Issues and Future Prospects," *Prog. Energy Combust. Sci.*, **38**, 449-467(2012).
- Binod, P., Sindhu, R., Singhanian, R. R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, R. K. and Pandey, A., "Bioethanol Production from Rice Straw: An Overview," *Biore-sour. Technol.*, **101**, 4767-4774(2010).
- Menon, V. and Rao, M., "Trends in Bioconversion of Lignocellulose: Biofuels, Platform Chemicals," *Prog. Energy Combust. Sci.*, **38**, 522-550(2012).
- Kim, T. H., "Sequential Hydrolysis of Hemicellulose and Lignin in Lignocellulosic Biomass by Two-stage Percolation Process Using Dilute Sulfuric and Ammonium Hydroxide," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 2156-2162(2011).

13. Khan, A. W., "Effect of Electron-beam Irradiation Pretreatment on the Enzymatic Hydrolysis of Softwood," *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 1449-1453(1986).
14. 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).
15. Driscoll, M., Stipanovic, A., Winter, W., Kun, C., Manning, M. and Jessica, S., "Electron Beam Irradiation of Cellulose," *Radiat. Phys. Chem.*, **78**, 539-542(2009).
16. Alvira, P., Toms-Pej, E., Ballesteros, M. and Negro, M. J., "Pretreatment Technologies for An Efficient Bioethanol Production Process Based on Enzymatic Hydrolysis: A Review," *Bioresour. Technol.*, **101**, 4851-4861(2010).
17. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzaple, M. and Ladisch, M., "Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass," *Bioresour. Technol.*, **96**, 673-686(2005).
18. Liu, S. J., "Woody Biomass: Niche Position as a Source of Sustainable Renewable Chemicals and Energy and Kinetics of Hot-water Extraction/hydrolysis," *Biotechnol. Adv.*, **28**, 563-582(2010).
19. Shin, S. J. and Sung, Y. J., "Improving Hydrolysis of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.) by Electron Beam Irradiation," *Radiat. Phys. Chem.*, **77**, 1034-1038(2008).
20. Chosdu, R., Hilmy, N., Erizal, Erlinda, T. B. and Abbas, B., "Radiation and Chemical Pretreatment of Cellulosic Waste," *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 695-698(1993).
21. Ozturk, I., Irmak, S., Hesenov, A. and Erbatur, O., Hydrolysis of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Stems by Catalytical Thermal Treatment in Subcritical Water," *Biomass Bioenerg.*, **34**, 1578-1585(2010).
22. Badal, C. S., Tsuyoshi, Y., Michael, A. C. and Kenji, S., "Hydrothermal Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Corn Stover for Efficient Ethanol Production," *Ind. Crop. Prod.*, **44**, 367-372(2013).
23. Lawther, J. M., Sun, R. and Banks, W. B., "Effect of Steam Treatment on the Chemical Composition of Wheat Straw," *Holzforchung*, **50**, 365-371(1996).
24. Selig, M., Weiss, N. and Ji, Y., "Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass: Laboratory Analytical Procedure(LAP)," *National Renewable Energy Laboratory*, Golden, CO, USA(2008).
25. Kim, J. S., "The Characteristics of Alkaline Pretreatment Methods of Cellulosic Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **51**, 303-307(2013).
26. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. and Crocker, D., "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP)," *National Renewable Energy Laboratory*, Golden, CO, USA(2008).
27. Thygesen, A., Oddershede, J., Lilholt, H., Thomsen, A. and Stahl, K., "On the Determination of Crystallinity and Cellulose Content in Plant Fibres," Cellulose content in plant fiber. *Cellulose*, **12**, 563-576(2005).
28. Hong, S., Tahir, P., Mohamad, R., Abdullah, L., Choo, A. and Liong, Y. Y., "Effect of Pretreatment Process on Bioconversion of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Core to Glucose," *Bioresources*, **8**, 2010-2017(2013).
29. Okuda, N., Hori, K., Sato, M., Chemical changes of kenaf core binderless boards during hot pressing (II): effects on the binderless board properties. *J. Wood Sci.*, **52**, 249-254(2006).
30. Kumar, P., Diane M. B., Michael J. D. and Stroeve, P., "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **48**, 3713-3729(2009).
31. Hu, F. and Ragauskas, A., "Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry," *Bioenerg. Res.*, **5**, 1043-1066(2012).
32. Kumar, R., Mago, G., Balan, V. and Wyman C. E., "Physical and Chemical Characterization of Corn Stover and Polar Solids Resulting From Leading Pretreatment Technologies," *Bioresour. Technol.*, **100**, 3948-3962(2009).
33. Xiao, B., Sun, X. F. and Sun, R. C., "Chemical, Structural, and Thermal Characterizations of Alkali-soluble Lignins and Hemicelluloses, and Cellulose from Maize Stems, Rye Straw, and Rice Straw," *Polym. Degrad. Stabil.*, **74**, 307-319(2001).
34. Hsu, T. C., Guo, G. L., Chen, W. H. and Hwang, W. S., "Effect of Dilute Acid Pretreatment of Rice Straw on Structural Properties and Enzymatic Hydrolysis," *Bioresour. Technol.*, **101**, 4907-4913(2010).
35. Chundawat, P. S. S., Venkatesh, B. and Dale, B. E., "Effect of Particle Size Based Separation of Milled Corn Stover on AFEX Pretreatment and Enzymatic Digestibility," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **96**, 219-231(2006).
36. Chabannes, M., "In situ Analysis of Lignins in Transgenic Tobacco Reveals a Differential Impact of Individual Transformations on the Spatial Patterns of Lignin Deposition at the Cellular and Subcellular Levels," *Plant J.*, **28**, 271-282(2001).
37. Minu, K., Jiby, K. K. and Kishore, V. V. N., "Isolation and Purification of Lignin and Silica from the Black Liquor Generated During the Production of Bioethanol from Rice Straw," *Biomass Bioenerg.*, **39**, 210-217(2012).
38. Zhao, X. B., Wang, L. and Liu, D. H., "Peracetic Acid Pretreatment of Sugarcane Bagasse for Enzymatic Hydrolysis: A Continued Work," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **83**, 950-956(2008).
39. Kumakura, M. and Kaetsu, I., "Effect of Electron Beam Current Radiation Pretreatment of Cellulosic Wastes with Electron Beam Accelerator," *Radiat. Phys. Chem.*, **23**, 523-527(1984).
40. Gumuskaya, E., Usta, M. and Krici, H., "The Effects of Various Pulping Conditions on Crystalline Structure of Cellulose in Cotton Linters," *Polym. Degrad. Stabil.*, **81**, 559-564(2003).
41. Chen, W. H., Ye, S. C. and Sheen, H. K., "Hydrolysis Characteristics of Sugarcane Bagasse Pretreated by Dilute Acid Solution in a Microwave Irradiation Environment," *Appl. Energ.*, **93**, 237-244(2012).
42. Saha, B. C., Yoshida, T., Cotta, M. A. and Sonomoto, K., "Hydrothermal Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Corn Stover for Efficient Ethanol Production," *Ind. Crop. Prod.*, **44**, 367-372(2013).
43. Karthika, K., Arun, A. B. and Rekha, P. D., "Enzymatic Hydrolysis and Characterization of Lignocellulosic Biomass Exposed to Electron Beam Irradiation," *Carbohydr. polym.*, **90**, 1038-1045(2012).
44. Wang, W., Yuan, T., Wang, K., Cui, B. and Dai, Y., "Combination of Biological Pretreatment with Liquid Hot Water Pretreatment to Enhance Enzymatic Hydrolysis of *Populus tomentosa*," *Bioresour. Technol.*, **107**, 282-286(2012).