

## 효소당화를 위한 목질계 바이오매스의 유기용매 침출 전처리 공정

김준범 · 김준석<sup>†</sup>

경기대학교 화학공학과  
16227 경기도 수원시 영통구 광교산로 154-42  
(2016년 7월 13일 접수, 2016년 8월 19일 수정본 접수, 2016년 8월 30일 채택)

### Enhancement of Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass by Organosolv Pretreatment with Dilute Acid Solution

Jun Beom Kim and Jun Seok Kim<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kyonggi University, 154-42, Gwanggyosan-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi, 16227, Korea  
(Received 13 July 2016; Received in revised form 19 August 2016; accepted 30 August 2016)

#### 요 약

오르가노솔브를 이용한 전처리는 목질계 바이오매스의 주요성분을 분별하고 전처리 바이오매스의 효소당화를 효과적으로 유도할 수 있는 공정이다. 이에 사용되는 오르가노솔브는 증류와 재순환공정으로 쉽게 재사용이 가능하고 고형성분에서 리그닌을 화학적으로 분별시킬 수 있다는 장점이 있다. 경제적인 이유로서 낮은 분자량의 알코올(에탄올, 메탄올 등)이 사용되어 왔으며, 무기산(염산, 황산, 인산 등)이 촉매로 첨가되었을 경우 탈리그닌 효과 및 자일로스 성분의 수율을 증대시킬 수 있다. 본 연구에서는 오르가노솔브로는 에탄올을 사용하였고 소량의 황산 촉매를 첨가해 전처리를 수행하였다. 바이오매스는 침출식반응기에서 40~50 wt%의 에탄올을 이용해 20~60분 동안 170~180 °C에서 전처리가 되었다. 전처리를 마친 바이오매스에 대해서는 전처리 효과를 알아보기 위하여 72시간 동안 효소당화를 수행하였다. 그 결과 180 °C에서 50 wt% 에탄올을 이용한 리그디의 2단 전처리에서 당화율은 40.6%로 나타났지만 같은 조건에서의 1단 전처리에서는 55.4%로 가장 높게 나타나는 것을 보았을 때, 용매와 촉매를 균일하게 섞는 것이 전처리에 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

**Abstract** – Organosolv pretreatment is the process to fractionation of lignocellulosic feedstocks to enhancement of enzymatic hydrolysis. This process has advantages that organic solvents are always easy to recover by distillation and recycled for pretreatment. The chemical recovery in organosolv pretreatment can isolate lignin as a solid material and carbohydrates as fermentable sugars. For the economic considerations, using of low-molecular-weight alcohols such as ethanol and methanol have been favored. When acid catalysts are added in organic solvent, the rate of delignification could be increased. Mineral acids (hydrochloric acid, sulfuric acid, and phosphoric acid) are good catalysts to accelerate delignification and xylan degradation. In this study, the biomass was pretreated using 40~50 wt% ethanol at 170~180 °C during 20~60 min. As a results, the enzymatic digestibility of 2-stage pretreatment of rigida using 50 wt% ethanol at 180 °C was 40.6% but that of 1-stage pretreatment was 55.4% on same conditions, therefore it is shown that the pretreatment using mixture of the organosolv and catalyst was effective than using them separately.

**Key words:** Organosolv pretreatment, Lignocellulosic biomass, Flow-through process

#### 1. 서 론

최근 화석연료의 고갈과 급격한 기후변화로 인해 신재생에너지 자원을 이용한 액체 수송연료 개발에 대한 관심이 높아지고 있다.

특히 차세대 수송용 에너지로 에탄올이 주목받고 있으며, 그 원료로서 목질계 바이오매스에 대해 이목이 집중되고 있다. 목질계 바이오매스는 단기간에 재생산이 가능하고 주요 구성성분으로 셀룰로스와 헤미셀룰로스 등의 탄수화물이 풍부하게 포함되어있어 연료용 에탄올의 대량생산이 가능하기 때문이다[1]. 당질계 및 전분계 바이오매스를 이용하게 되면 별도의 전처리를 하지 않고도 가수분해 등 화학적 변환이 쉽지만, 식량자원과의 가격경쟁의 문제점을 갖고 있으며 상당 수준의 기술개발이 완료되어 기술향상의 가능성이 적다. 이러한 문제점들을 극복하기 위한 대안으로 목질계 바이오매스

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jskim84@kyonggi.ac.kr

\*이 논문은 고려대학교 김성현 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.  
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.

를 이용한 바이오 알코올 생산에 대한 연구에 많은 관심이 집중되고 있으며 그 가능성이 확인되고 있다.

목질계 바이오매스와 비목질계 바이오매스는 물리적 성질과 화학적 성분에서 큰 차이가 나는데, 목질계 바이오매스는 밀도가 높고 구조가 치밀하며 화학적으로는 리그닌을 많이 함유하고 있다. 이로 인해 목질계 바이오매스는 전처리에 있어서 더욱 많은 에너지가 들게 되는 반면, 밀도가 낮은 초본계 바이오매스에 비해 상대적으로 운송비용이 덜 든다는 장점을 갖고 있다[2]. 전처리는 일반적으로 바이오매스를 산 또는 알칼리 용매에 접촉시켜 온도와 압력, 시간 등 여러 가지 공정변수를 두어 진행하게 된다. 하지만 기존의 전처리 방법들은 높은 온도와 압력을 요구하는 공정으로 에너지 비용의 부담 및 공정상 발생하는 독성물질에 의한 당화/발효 공정의 저해요인 등 여러 가지 문제점을 지니고 있다[3]. 위와 같은 이유로 공정상 비용절감을 위해 전처리 후의 추출액을 재순환시키기 위한 목적으로 에탄올을 이용한 전처리에 대한 연구가 증가하고 있다. 에탄올은 물에 비해 낮은 비점을 갖고 있어서 증류를 통해 회수와 재사용이 용이하며, 에탄올을 기반으로 한 전처리는 바이오매스에 대한 효소의 접근성을 높여줄 뿐만 아니라 고순도의 리그닌과 탄소화합물을 얻게 할 수 있다는 장점을 갖고 있다[4]. 이와 같은 전처리 공정에 산성 촉매를 소량 사용할 경우, 일반적으로 자일로스의 수율이 높아지게 된다[5]. 하지만 오르가노솔브에 희석된 산을 첨가한 옥수수대의 전처리의 경우, XMG (xylan, mannan, galactan) 제거가 글루코스의 효소당화율에 대한 일차적인 요인이 아니라고 보고된 바 있다[6]. 전처리된 고형성분에 대한 효소당화율은 효소의 기질접근성, 리그닌 함량과 구조, 헤미셀룰로스의 함량, 중합도(DP; Degree of polymerization)에 따라 달라진다. 리그닌은 효소단백질을 비가역적으로 흡착하여 효소의 활성도를 떨어트리는 것으로 보고되고 있다[7]. 하지만 리그닌의 완전한 제거는 쉽지 않으며, 리그닌 제거율이 높더라도 효소의 셀룰로스 접근성이 확보되지 않으면 효소당화율을 높이지 못한다[8]. 결론적으로 리그닌의 구조와 그 함량, 그리고 헤미셀룰로스의 함량에 따른 효소당화율은 전처리 방법에 따라 달라진다. 앞에서 말했듯이 전처리에는 여러 가지 공정변수를 두고 이를 토대로 선택적으로 성분을 분리한다. 전처리는 바이오매스에 용매를 접촉시켜서 한 단계로 끝내는 게 보편적이지만, 그 효율을 증대시키고자 두 단계 이상의 과정을 거치면서 진행하는 전처리 또한 연구가 되고 있다. 이중 한 단계는 일반적으로 산 촉매를 사용하는 전처리로, 두 단계에 걸쳐서 전처리를 하게 되면 바이오매스의 구성성분인 XMG와 리그닌이 많이 제거되어 단일 전처리에 비해 그 효과가 높아질 수 있다[9-11].

본 연구에서는 오르가노솔브와 황산 촉매를 이용한 목질계 바이

오매스(포플라, 리기다)의 전처리를 진행하고자 한다. 오르가노솔브로는 에탄올, 산 촉매로는 황산 촉매를 사용하여 연구를 수행하였고, 공정에 사용되는 반응기는 침출식 반응기로써 용매에 용출되어 나오는 추출물이 다시 바이오매스와 재결합하는 것을 최소화 하였다. 40~50 wt%의 에탄올과 0~2.0 wt%의 황산 촉매로 170~180 °C에서 20~60분 동안 전처리를 진행하였고, 2 단계에 걸쳐서 전처리를 해봄으로써 전처리 시 용매와 촉매의 영향을 알아보려고 하였다.

## 2. 재료와 실험방법

### 2-1. 재료

본 연구에서 사용한 목질계 바이오매스는 대표적인 하드우드(hard wood)인 포플라와 소프트우드(soft wood)인 리기다를 한국에너지기술연구원(KIER)으로부터 제공받아 기질로서 사용하였다. 각 바이오매스는 50~100 mesh의 균일한 크기의 기질로 사용하였고, 분쇄 후에는 45 °C 오븐에서 건조하였다. 바이오매스의 성분분석을 위한 기질의 대조군으로 여과지(Whatman No.1, CAT No.: 1001-150, GE Healthcare Co., UK)와 알파셀룰로스( $\alpha$ -cellulose, CAS No.: 9004-34-6, Sigma Aldrich Co., USA)를 사용하였다. 전처리에는 오르가노솔브로서 에탄올(Ethyl alcohol, 95.0%, CAS No. 64-17-5, Samchun, Korea)을 이용하였고 이에 첨가된 촉매로써는 황산(Sulfuric acid, 95.0%, CAS No.: 7664-93-9, Samchun, Korea)을 이용하였다.

### 2-2. 전처리

각 바이오매스는 침출식 반응기를 통해 전처리가 진행되었다. 침출식 반응기는 바이오매스와 접촉한 오르가노솔브를 연속적으로 내보내기 때문에 기존의 회분식 반응에서 볼 수 있었던 셀룰로오스와 리그닌의 재결합 현상을 최소화 시킬 수 있고, 또한 후압(back pressure)을 통해 용액의 기화를 방지할 수 있어서 고/액반응이 보다 지속적으로 일어나게 할 수 있다는 장점이 있다. 전체적인 침출식 전처리 공정의 모습은 Fig. 1에 나타내었다. 본 연구를 함에 있어 반응온도와 오르가노솔브의 농도, 촉매의 농도를 공정변수로 설정하였다. 온도는 170~180 °C로 설정하였고 포플라의 경우 40 wt%의 에탄올, 리기다의 경우 50 wt%의 에탄올을 사용하여 0~2.0 wt%의 황산 촉매를 사용하였다. 바이오매스와 오르가노솔브의 고액비(S/L ratio)는 두 바이오매스의 밀도차이로 인해 포플라의 경우 1:8 (w/v), 리기다의 경우 1:5 (w/v)로 설정하였고, 각 바이오매스는 반응기 내부에 가득 채워지도록 하였으며, 반응기는 오븐 내에 설치되어 각 조건에 따른 온도를 일정하게 유지하여 전처리를 진행하

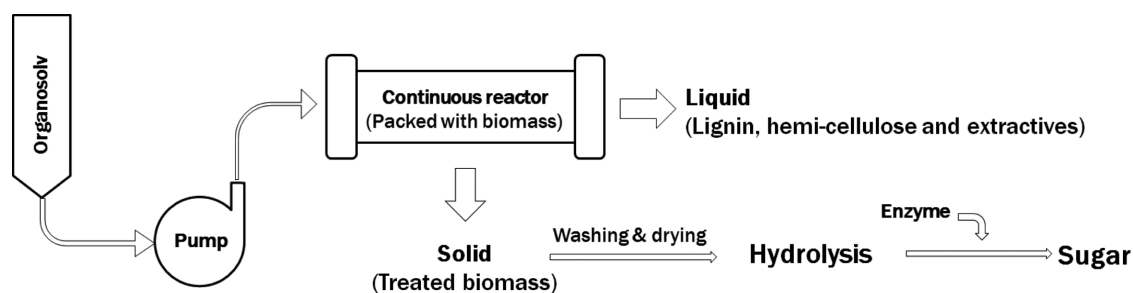


Fig. 1. Schematic diagram of flow-through pretreatment process.

였다. 침출형 반응기는 스테인리스 스틸(SS-316)로 제작되었으며, 용매 공급 펌프는 51K40GN-CW (Oriental motor Co., LTD, Japan)를 사용하였다. 이후 질소를 사용하여 반응기 전체에 후압을 400~600 psig로 유지시킴으로써 반응기 내 용액의 기화를 최소화하고 지속적인 고/액반응이 일어나도록 했다. 전처리는 두 가지 방법으로 진행했는데, 1단 전처리와 2단 전처리는 같은 반응기 내에 주입되는 용액을 넣는 방식을 달리했다. 1단 전처리를 함으로써 용매와 촉매를 균일하게 섞었을 때의 전처리 효율을 알아보려고 했고, 2단 전처리는 용매와 촉매를 순차적으로 넣었을 때의 전처리 효율을 알아보기 위해 진행했다. 또한 일부 전처리에서는 용매와 촉매를 독립적으로 사용해서 전처리를 진행해봤는데, 이는 전처리 시 용매와 촉매가 바이오매스에 어떤 영향을 미치는지 알아보려고 했다. 일부 전처리의 경우 용매와 촉매를 균일하게 섞은 용액을 10 ml/min의 유속으로 주입했고, 2단 전처리는 용매와 촉매를 각각 10 ml/min, 5 ml/min으로 순차적으로 주입했다. 전처리를 거친 바이오매스는 상온의 증류수를 이용하여 세척 및 여과를 거친 뒤 45 °C의 오븐에서 48시간 동안 건조되었다. 전처리를 수행한 바이오매스와 초기 바이오매스의 질량을 비교하여 고체잔류량(Solid remaining)을 알아보았고, 이는 다시 효소당화와 성분분석을 통해 전처리의 효율을 평가하였다.

### 2-3. 효소당화

효소당화는 삼각플라스크(Erlenmyer flask)를 사용하여 기질과 완충용액(buffer solution), 그리고 효소를 주입하였다. 기질로써는 전처리를 수행하지 않은 바이오매스와 전처리를 수행한 바이오매스를 사용하였고, 이에 대한 효소당화율을 비교하기 위한 대조군으로 여과지와 알파셀룰로스를 사용하였으며, 기질농도는 5% (w/v)로 설정하였다. 완충용액은 sodium citrate buffer (0.5 M, pH 4.8)를 사용하였고, 효소는 Cellic C-tec2 (Novozyme Co., Denmark)를 65 FPU/ml의 활성화도로 주입하였다. 효소당화는 50 °C에서 150 rpm으로 진탕배양기에서 72시간동안 진행되었다.

### 2-4. 성분분석

전처리를 수행한 바이오매스의 당과 리그닌에 대한 성분분석은 미국신재생에너지연구소(NREL; National Renewable Energy Laboratory)에서 제시한 NREL Procedures LAP-002와 LAP-003에 제시된 방법으로 진행하였다[12]. 전처리가 수행된 바이오매스와

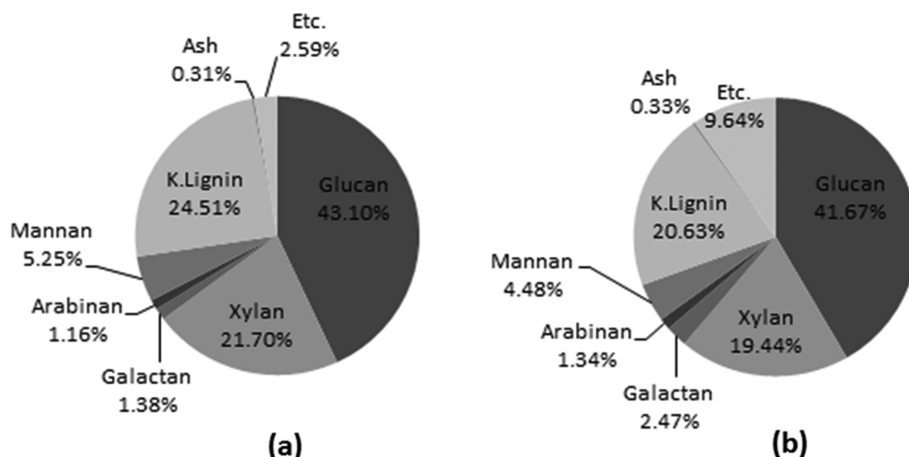
효소당화액은 HPLC (Waters Co., USA)로 분석하였고, 이 때 이동상은 5 mM의 황산용액으로 하여 0.6 ml/min의 유속으로 운전하였다. 검출기는 Waters 410 RI Detector (Refractive Index)를 사용하였고 검출기의 온도는 50 °C로 설정하였다. HPLC에 사용된 컬럼은 Bio-lad사의 Aminex HPX-87H Column을 사용하였고 컬럼의 온도는 60 °C로 설정하였다. 위 성분분석법을 통한 초기 바이오매스의 구성성분 함량은 Fig. 2에 나타내었다.

## 3. 결과 및 고찰

두 가지 바이오매스(포플라, 리기다)에 대하여 전처리를 진행하였다. 각 전처리 따른 조건은 Table 1에 나타내었고, 초기 바이오매스 대비 전처리 후 바이오매스의 양을 고체잔류량(solid remaining)으로 나타내었다. P1~P2, R1~R3는 각각 포플라(P)와 리기다(R)에 대해서 황산촉매의 농도를 변화시켜주어 전처리를 진행했고, R4는 R1의 조건에서 온도만을 변화시켜주었다. R5는 전처리 시 황산촉매를 첨가하지 않은 에탄올만을 사용했고, R6는 용매를 사용하지 않고 1.0 wt%의 황산용액만을 사용했으며 이후 R7, R8은 에탄올과 황산촉매를 각각 순차적으로 주입하여 전처리를 수행했다. 포플라의 경우 170 °C에서 0.5~1.0 wt%의 황산 촉매를 섞은 40 wt%의 에탄올을 이용하여 10 ml/min의 유속으로 침출시켰고, 리기다의

**Table 1. The conditions of pretreatment on poplar (P) and rigida (R). (A : Pretreated biomass by 2-stage process)**

No.	Conditions			Solid remaining (%)
	Temperature (°C)	Ethanol (wt%)	Sulfuric acid (wt%)	
P0		Raw material		
P1	170	40	0.5	36.0
P2	170	40	1.0	21.7
R0		Raw material		
R1	170	50	1.0	41.9
R2	170	50	1.5	40.3
R3	170	50	2.0	40.6
R4	180	50	1.0	38.9
R5	170	50	0	74.7
R6	170	0	1.0	62.4
R7 <sup>A</sup>	170	50	1.0	55.3
R8 <sup>A</sup>	180	50	1.0	55.7



**Fig. 2. Component contents of raw poplar (a) and rigida (b).**

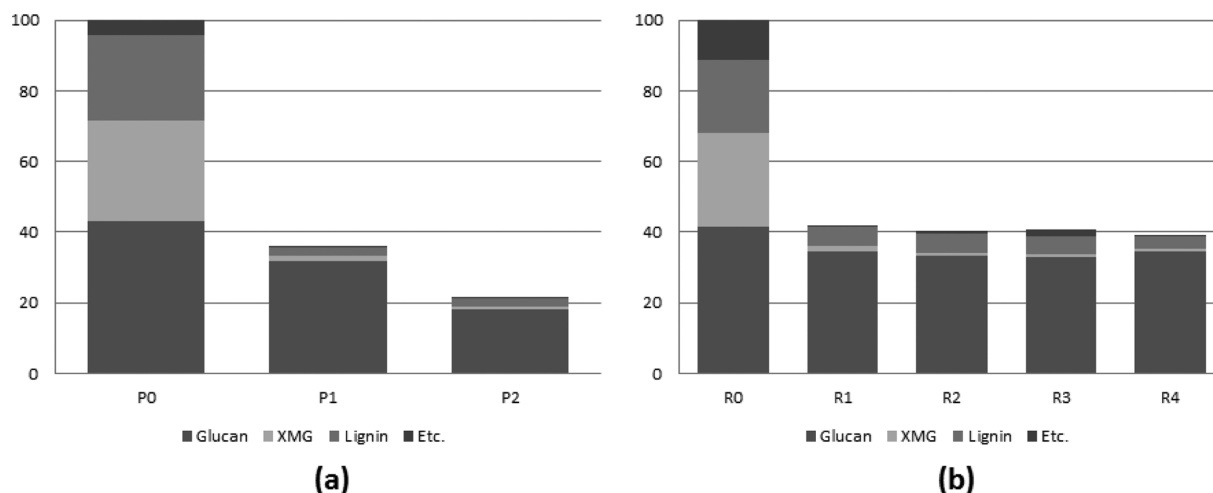


Fig. 3. Component contents of pretreated poplar (a) and rigida (b) on various conditions (P0, R0 is the raw material without pretreatment. The solid remaining after pretreatment was showed as the sum of all components content).

경우 170~180 °C에서 1.0~2.0 wt%의 황산 촉매를 섞은 50 wt% 에탄올을 이용하여 침출시켰다.

### 3-1. 하드우드(hardwood)와 소프트우드(softwood)

Fig. 3은 P1~P2, R1~R4의 조건으로 바이오매스에 대해 전처리를 수행한 후 성분분석을 한 결과이다. 전처리에 대한 바이오매스의 고체잔류량은 각 성분들의 합으로 나타내었으며, 글루칸(glucan), XMG (xylan, mannan, galactan), lignin에 대한 분석을 실시하였다. 170 °C에서 40 wt%의 에탄올을 사용하고 황산촉매의 농도를 0.5~1.0 wt%로 변화시켜주어 첨가한 포플라의 성분변화를 Fig. 3a에 나타내었다. 0.5 wt%의 황산촉매를 사용한 포플라(P1)는 초기 바이오매스 대비 36.0%만이 남았지만 잔류 고형성분의 대부분은 글루칸으로 나타났다. 리그닌은 91.6%가 제거되었고 XMG도 94.3%가 제거된 반면, 글루칸은 73.9%가 보존되었다. P2는 동일한 조건에서 황산촉매의 농도를 1.0 wt%로 늘려주었는데, 리그닌 제거율은 90.5%로 나타났고 XMG 또한 97.9%가 제거되었다. 하지만 황산촉매의 농도가 증가함에 따라 글루칸에도 많은 손실이 생겨 글루칸은 초기 바이오매스 대비 42.9%만이 보존되었다. Fig. 3b에는 리기다 전처리 후 성분변화를 나타내었다. R1~R3에서는 170 °C에서 50 wt%의 에탄올을 사용하고 황산촉매의 농도를 1.0~2.0 wt%로 변화주어 전처리

진행했는데, 리그닌 제거율은 초기 바이오매스 대비 73.3~75.3%로 거의 비슷한 수치를 나타냈으며, 황산촉매의 농도가 높아질수록 리그닌 제거율이 높아졌다. 황산 촉매의 농도 증가에 따라 XMG 제거율도 높아졌는데, 세 조건에서 모두 94.9~96.0%로 매우 높은 수치를 나타냈다. 하지만 초기 바이오매스 대비 글루칸의 보존율은 낮아졌으며 R1에서 글루칸 보존율이 82.9%를 나타낸 반면, 황산 촉매의 농도가 2.0 wt%로 높아진 R3에서는 78.7%로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 50 wt%의 에탄올을 사용하고 1.0 wt%의 황산촉매를 넣은 R1의 조건에서 온도를 180 °C로 설정한 R4의 전처리의 경우 글루칸 보존율은 82.7%로 R1과 비슷한 수치를 보였지만 73.3%의 리그닌 제거율이 나타났던 R1보다 향상된 83.0%로 증가했으며 XMG 제거율은 97.3%로 증가했다. Fig. 4는 위의 전처리에 대한 효과를 알아보기 위해 72시간 동안의 효소당화를 진행 후 그 당화율을 나타낸 그래프이다. 포플라의 경우 전처리를 하지 않은 바이오매스인 P0의 효소당화율이 7.1%에 그쳤지만 P1의 조건만으로도 55.6%로 증가했다. 게다가 P2로 전처리를 하게 될 경우 효소당화율은 64.4%로 증가했고, 이때 글루코스 농도는 32.4 g/L로 나타났다. 전처리를 하지 않은 리기다(R0) 또한 효소당화율은 9.2%로 매우 낮게 나타났지만 R1~R4의 조건으로 전처리를 진행하게 될 경우 34.0~55.9%로 다양하게 나타났다. 황산 촉매의 농도만을 바꾸어 전처리를 진행한 R1~R3 중 가장 높은 효소당화율을 보인 전처리 조건은 R2로, 45.1%의 효소당화율을 나타냈고, 이때 글루코스의 농도는 22.4 g/L로 나타났다. 하지만 R1에 비해 온도만 10 °C 높은 R4에서는 효소당화율이 55.9%로 향상되는 것을 확인했으며, 이때의 글루코스 농도는 28.9 g/L로 나타났다.

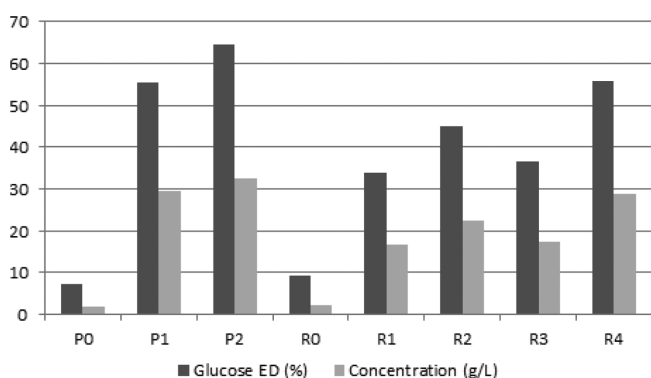


Fig. 4. The enzymatic digestibility of solid residue and its glucose concentration by enzymatic hydrolysis after 72 hours (where, ED is enzymatic digestibility).

### 3-2. 용매와 촉매의 영향

R5~R8은 리기다 전처리 시 용매와 촉매를 독립적으로 사용함으로써 나타나는 변화를 알아보고자 했으며, 이에 대한 성분분석의 결과는 Fig. 5에 나타내었다. R5는 50 wt%의 에탄올만을, R6은 1.0 wt%의 황산용액만을 이용한 전처리이며, R7과 R8은 에탄올과 황산촉매를 순차적으로 주입한 뒤 온도에 변화를 주어 전처리를 진행하였다. 50 wt%의 에탄올만을 사용한 R5에서는 글루칸 보존율이 82.4%로, 1.0 wt%의 황산 촉매만을 사용한 R6에서보다 높았고, 리

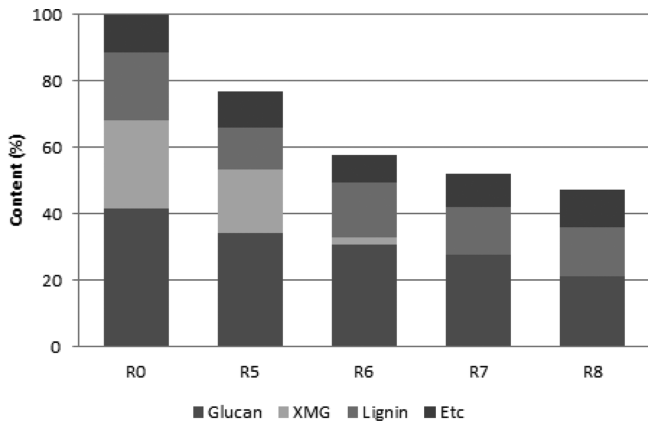


Fig. 5. Component contents of pretreated rigida on various conditions (R5, R6 used an ethanol and surfuric acid as an organosolv, respectively. R7, R8 are the 2-stage flow-through pretreatment).

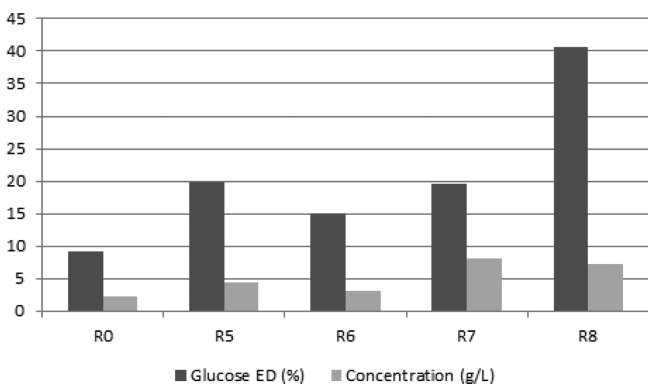


Fig. 6. The enzymatic digestibility of solid residue and its glucose concentration by enzymatic hydrolysis after 72 hours (Where, ED is a enzymatic digestibility).

그린 제거율 또한 R5가 38.9%로 초기 바이오매스 대비 21.2%만을 제거한 R6에 비해 높은 수치를 나타냈다. 하지만 XMG 제거율은 R6에서 91.6%로, 27.7%로 나타난 R5에 비해 월등히 높았으며, 2단 침출 전처리를 한 R7과 R8에 대해서는 XMG의 완전한 제거를 볼 수 있었다. 2단 침출 전처리에서 온도변화에 따른 리그닌 제거율은 R7에서 30.3%, R8에서 27.2%로 나타났다. 하지만 글루칸 보존율은 66.7%로 나타난 R7에 비해 R8에서는 50.2%로, 초기 바이오매스의 글루칸 함량에 비해 절반 밖에 안 되는 수치를 보였다. 위 전처리를 통해 나오게 된 고형성분에 대한 효소당화율과 글루코스 농도를 Fig. 6에 나타내었다. 에탄올 전처리를 한 R5의 효소당화율은 19.9%, 황산용액만으로 전처리를 한 R6는 15.1%로 나타났다. 2단 침출 전처리를 통해 나오게 된 바이오매스도 같은 방법으로 효소당화를 진행하였는데, 효소당화율이 19.5%에 그친 R7에 비해 R8은 40.6%로 향상된 것을 확인할 수 있었고, 이때의 글루코스 농도는 7.3 g/L로 나타났다.

#### 4. 결 론

목질계 바이오매스 중 대표적인 하드우드와 하드우드인 포플라와 리기다에 대해 에탄올을 이용한 침출식 유기용매 전처리를 수행하였고, XMG성분과 리그닌을 효과적으로 제거하기 위해 소량의 황

산촉매를 첨가했다. 소프트우드인 포플라의 전처리 시 0.5 wt%의 황산촉매의 첨가만으로도 리그닌과 XMG성분을 효과적으로 제거할 수 있었다. 1.0 wt%의 황산촉매를 사용하게 될 경우 리그닌의 제거율에는 큰 변화가 없었고 오히려 글루칸의 손실만을 야기했지만, 효소당화율은 55.6%에서 64.4%로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 소프트우드인 리기다 또한 에탄올에 황산촉매를 첨가해 사용하는 것이 효소당화율을 높일 수 있는 것으로 나타났다. 황산 촉매의 농도를 달리 한 리기다의 전처리(R1~R3)에서는 XMG제거율이 94.9~96.0%로 나타났고 73.3~75.3%의 리그닌 제거율을 확인했다. 리기다에서는 황산 촉매의 농도가 높아지더라도 잔류 고형물의 성분변화에 큰 영향을 주지 않는 것으로 확인되었으며, 황산 농도를 증가시켰을 때보다 반응온도를 높였을 때 효소당화율을 증가시킬 수 있는 것으로 나타났다. 용매와 촉매를 독립적으로 사용한 전처리(R5~R6)에서는 용매로서 사용되는 에탄올이 글루칸 보존율과 리그닌 제거율에 영향을 주는 것으로 나타났고, 촉매로서 사용되는 황산은 XMG성분의 제거에 효과적이었다. 이 두 가지 전처리 방법을 순차적으로 진행할 경우, XMG성분을 완전히 제거할 수 있었고, 보다 높은 온도에서 전처리(R8)를 진행할 경우 글루칸의 손실이 발생하는 반면 효소당화율은 40.6%로 증가하는 것을 확인할 수 있었지만, 1단 전처리(R1~R4)의 효소당화율보다는 낮은 것으로 나타났다.

위를 토대로 포플라와 리기다에 황산 촉매를 첨가한 에탄올 전처리를 통해 리그닌과 XMG성분의 높은 제거율을 확인했지만, 이 성분들의 함량이 효소당화율에는 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 일반적으로 효소당화율이 높아진 원인으로서는 리그닌의 제거율의 향상을 말할 수 있지만, 위 결과를 보았을 때 리그닌의 제거보다는 온도의 영향이 효소당화율에 더 큰 작용을 한 것으로 나타났다. 용매와 촉매를 독립적 또는 순차적으로 사용한 전처리보다는 균일하게 섞어 하나의 용액으로서 사용하는 전처리에서 상대적으로 높은 효소당화율이 나타나는 것을 볼 수 있었다.

#### 감 사

본 연구는 2015학년도 경기대학교 학술 연구비(일반연구과제; 2015-073) 지원에 의하여 수행되었음.

#### References

1. Cayetano, R. D., Kim, T. H. and Um, B. H., "Bioconversion Strategy in Conversion of Lignocellulosic Biomass upon Various Pretreatment Methods using Sulfuric Acid and Aqueous Ammonia," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**(1), 45-51(2014).
2. Zhu, J. Y. and Pan, X. J., "Woody Biomass Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production: Technology and Energy Consumption Evaluation," *Bioresource Technology*, **101**, 4992-5002(2010).
3. Park, Y. C., Kim, J.-W. and Kim, J. S., "Pretreatment Characteristics of Ammonia Soaking Method for Cellulosic Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.*, **49**(3), 292-296(2011).
4. Zhang, H. and Wu, S., "Efficient Sugar Release by Acetic Acid Ethanol-Based Organosolv Pretreatment and Enzymatic Saccharification," *J. Agric. Food Chem.*, **62**(48), 11681-11687(2014).
5. Bhandari, N., MacDonald, D. G. and Bakhshi, N. N., "Kinetic Studies of Corn Stover Saccharification Using Sulphuric Acid," *Biotech. Bioeng.*, **26**, 320-327(1984).

6. Zhu, Z., Sathitsuksanoh, N., Vinzant, T., Schell, D. J., McMillan, J. D. and Zhang, Y. H. P., "Comparative Study of Corn Stover Pretreated by Dilute Acid and Cellulose Solvent-based Lignocellulose Fractionation: Enzymatic Hydrolysis, Supramolecular Structure, and Substrate Accessibility," *Biotechnol. Bioeng.*, **103**, 715-724(2009).
7. Kumar, R. and Wyman, C. E., "Access of Cellulase to Cellulose and Lignin for Poplar Solids Produced by Leading Pretreatment Technologies," *Biotechnol. Prog.*, **25**, 807-819(2009).
8. Rollin, J., Zhu, Z., Sathitsuksanoh, N. and Zhang, Y. H. P., "Increasing Cellulose Accessibility is More Important Than Removing Lignin: A Comparison of Cellulose Solvent-based Lignocelluloses Fractionation and Soaking in Aqueous Ammonia," *Biotechnol. Bioeng.*, **108**, 22-30(2011).
9. Kim, T. H., "Sequential Hydrolysis of Hemicellulose and Lignin in Lignocellulosic Biomass by Two-stage Percolation Process Using Dilute Sulfuric Acid and Ammonium Hydroxide," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**(11), 2156-2162(2011).
10. Bunpot Klinpratoom, Anissara Ontanee, and Chalerm Ruangviriyachai, "Improvement of Cassava Stem Hydrolysis by Two-stage Chemical Pretreatment for High Yield Cellulosic Ethanol Production," *Korean J. Chem. Eng.*, **32**(3), 413-423(2015).
11. Kim, J.-W., Kim, K. S., Lee, J.-S., Park, S. M., Cho, H.-Y., Park, J. C. and Kim, J. S., "Two-Stage Pretreatment of Rice Straw Using Aqueous Ammonia and Dilute Acid," *Bioresource Technology*, **102**, 8992-8999(2011).
12. National Renewable Energy Laboratory, Standard Biomass Analytical Procedures, [http://www.nrel.gov/biomass/analytical\\_procedures.html](http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html).