

초본계 바이오매스의 물리-화학적 유기용매 전처리 공정

김준석[†]

경기대학교 화학공학과
16227 경기도 수원시 영통구 광교산로 154-42
(2018년 4월 11일 접수, 2018년 5월 11일 수정본 접수, 2018년 5월 16일 채택)

Physico-Chemical Pretreatment of Herbaceous Biomass by Organosolv Flow-Through Process

Jun Seok Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kyonggi University, 154-42, Gwanggyosan-ro, Yeongtong-gu, Suwon-Si, Gyeonggi-Do, 16227, Korea
(Received 11 April 2018; Received in revised form 11 May 2018; accepted 16 May 2018)

요 약

초본계 바이오매스는 목본계 바이오매스에 비해 구조가 견고하지 않아 화학적 전환이 용이하다. 하지만 당질계 바이오매스에 비해 리그닌이 많아 전처리가 필수적으로 요구된다. 오르가노솔브는 리그닌과 같은 효소당화에 저해가 되는 물질을 분별하기 쉬우며 특히 에탄올과 같은 낮은 분자량의 용매는 증류를 통해 재사용이 용이하다는 장점이 있다. 한편 침출식 전처리 공정은 기존의 회분식 공정에서 문제점으로 언급되었던 분별된 성분들의 재결합 현상을 방지할 수 있고 고-액 분리가 용이하다는 장점이 있으며, 향후 스케일업에도 유리하다. 아직까지는 바이오알코올 생산 공정 중 전처리 과정에서 소모되는 에너지 비용이 크기 때문에 본 연구의 전처리에서는 촉매 없이 에탄올만을 이용해 부가공정의 발생을 줄이려고 했다. 침출식 전처리는 150~190 °C에서 30~99.5 wt% 에탄올을 이용하여 20~60분 동안 수행되었다. 높은 반응온도와 긴 반응시간은 에너지 소모가 크기 때문에 물리적 전처리 방법과의 연계를 적용하여 에너지 저감의 가능성을 알아보았다.

Abstract – Herbaceous biomass is easier at chemical conversion than woody biomass. However, pretreatment must be needed because it has substantially lignin. Organosolv is good at fractionation of enzymatic hydrolysis inhibitors such as lignin and it is reusable by distillation when it has low molecular weight. Flow-through process can prevent recondensation of fractionated components and easily separate liquid from the biomass. In this study, the pretreatment was performed for decreasing additional process by using ethanol without catalyst because this process has a lot of operation expense at bio-alcohol production process. Flow-through pretreatment was performed at 150~190 °C with 30~99.5 wt% ethanol during 20~60 minutes. Also the physico-chemical pretreatment was performed for decreasing reaction time and temperature.

Key words: Organosolv pretreatment, Flow-through process, Physico-chemical pretreatment, Herbaceous biomass

1. 서 론

산업화의 도래 이후로 인류는 화석연료를 여러 분야에서 사용하고 있다. 특히 비행기나 배, 자동차 등 수송부문에 많이 쓰이고 있으며 여러 기관에서는 계속해서 석유자원의 고갈을 우려하고 있다. 화석연료는 수천~수만 년 전, 동·식물 등의 사체가 지압과 열로 인해 생성되었기 때문에 언젠가는 바닥을 보이게 될 것이고, 이산화탄소의 발생량이 높아 전 세계적으로 이상기후현상이 발생하는

등 여러 문제점들로 인해 대체에너지에 대한 관심이 높아지고 있다. 하지만 석유를 대체할 수 있는 에너지는 석유에 비해 열효율이 낮아 실질적으로 완전한 대체를 하기는 어려우나, 기존의 연료에 신재생연료를 일부 혼합해 사용하는 방식으로 여러 나라에서는 이산화탄소 배출량을 감축시키려 하고 있다. 현재 미국에서는 E85 (가솔린 내 85%의 에탄올 함량)와 같은 상품을 내놓고 있는 가운데, 우리나라에서도 이에 맞춰 가솔린이나 디젤에 의무적으로 바이오연료를 혼합하여 사용하는 ‘신재생연료 의무혼합제도(RFS; Renewable Fuel Standard)’를 시행하고 있다. 우리나라의 RFS는 2017년부터 3.0%, 2021년부터 7% 비율로 바이오에탄올을 의무적으로 혼합할 예정이라고 밝힌 바 있지만, 시장과 기술여건 변화에 맞춰 실효성을 점차적으로 높일 계획에 있다[1]. 일반적으로 이렇

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jskim84@kyonggi.ac.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.

게 생산되는 바이오에탄올의 경우 옥수수를 이용해 화학적 전환을 거쳐 생산하게 되는데, 이 때 발생하는 부산물에 대한 처리가 아직은 미흡하고 식량자원을 원료로 하기 때문에 가격 급증에 따른 원료수급문제가 가장 시급한 상황이다. 이러한 문제를 피하고자 목질계 바이오매스에 대한 연구가 주목받고 있다.

목질계 바이오매스는 옥수수와 같은 당질계 바이오매스보다 구조가 견고하여 전처리가 필수적으로 요구된다는 단점이 있지만, 기본적으로 농업부산물이나 폐목재 등의 비식용작물을 원료로 사용하기 때문에 원료의 가격 면에서 충분한 경쟁력을 확보할 수 있다. 바이오매스는 일반적으로 셀룰로오스를 헤미셀룰로오스와 리그닌이 감싸고 있는 형태를 띠게 된다. 리그닌은 식물 구조의 지지체 역할을 하게 되지만 효소와 비가역적으로 흡착되어 효소의 활성을 떨어트리는 것으로 알려져 있다[2]. 리그닌의 이러한 성질로 인해 리그닌을 분별해내기 위한 방법으로 전처리가 요구된다.

전처리 시 사용되는 용매로는 산성 용매 또는 알칼리 용매를 사용하거나 중성 용매에 촉매를 첨가해 진행하기도 한다. 하지만 산성 용매를 사용하게 되면 셀룰로오스 또는 헤미셀룰로오스의 과분해가 이루어져 여과법이나 막분리법 등을 이용한 분리공정이 필요하고 장비의 부식 또한 야기되며, 무엇보다도 분별된 리그닌의 작용기들을 파괴하여 다른 용도로의 전환이 힘들다는 단점이 있다. 이에 반해 오르가노솔브인 에탄올은 중성의 pH를 갖고 있고 리그닌의 ether 결합만을 파괴하기 때문에 작용기가 파괴되지 않은 순수한 리그닌으로 분별시킬 수 있다는 장점이 있으며, 헤미셀룰로오스의 분별 또한 용이하다. 하지만 이렇게 분별된 리그닌은 시간이 지남에 따라 재결합을 하기 때문에 연속적으로 제거를 해주어야 한다. 이를 위해 고안된 침출식 전처리 방법은 용매를 연속적으로 흘려보내주어 침출된 성분의 재결합을 방지하는데 용이하며, 고-액 분리가 원활하다는 장점이 있다[3]. 반응이 끝나고 나온 용매는 다양한 성분이 함유되어있지만 비점이 낮은 용매를 사용할 경우 증류만으로도 재사용이 가능하기 때문에 침출식 전처리로 용매를 재사용하는 방법이 고안되기도 하였다[4]. 하지만 전처리 과정은 바이오알코올 생산 공정 중 가장 높은 에너지 비용을 담당하고 있으며 그렇기 때문에 반응온도와 반응시간을 낮추는 것이 중요하다. 낮은 에너지 비용으로도 고효율을 내기 위해서는 용매를 달리하여 사용하거나 다른 전처리 방법과 연계하여 사용하기도 한다. 전처리의 목적은 효소와 접촉할 수 있는 면적을 확보하는 것이기 때문에 milling이나 grinding 등 바이오매스의 크기를 줄이는 물리적 전처리도 연구되고 있다[5].

본 연구에서는 효율적인 전처리 공정 구축과 에너지 비용 저감을 위해 오르가노솔브를 이용하여 침출식 반응기로 전처리를 수행했

다. 바이오매스로는 옥수수대를 이용하였고 효소당화를 통해 전처리 효율을 평가하였다. 옥수수대의 에탄올 전처리 특성을 알아보고 효소당화율을 향상시킬 수 있는 조건을 확립하였다. 또한 화학적 전처리와 물리적 전처리의 연계를 통해 공정비용을 저감시키고자 하였으며, 불필요한 공정을 최소화하여 공정시간을 단축시키려고 했다.

2. 재료 및 실험 방법

2-1. 재료

본 연구에서 사용한 바이오매스는 초본계 바이오매스(herbaceous biomass)로서 옥수수대(corn stover)를 CJ제일제당으로부터 제공받아 사용하였다. 바이오매스는 50~100 mesh의 균일한 크기로 분쇄 후 45 °C 오븐에서 건조해 사용하였다. 옥수수대는 기본적으로 34.2%의 글루칸(glucan)과 22.4%의 XMG (xylan, mannan, galactan)와 13.3%의 리그닌(lignin)으로 구성되어 있으며, 아세트산, 단백질, 회분을 포함한 30.1%의 기타성분으로 구성되어 있다. 옥수수대의 전처리 및 특성 파악을 위한 비교군으로 α -cellulose (Sigma Aldrich Co., LLC)와 Whatman No.1 (HYUNDAI Micro Co., LTD)을 사용하였다. 전처리에는 오르가노솔브로서 에탄올(Ethyl alcohol, 95.0%, CAS No. 64-17-5, Samchun, Korea)을 이용하였으며, 증류수로 희석하여 농도를 조절하였다.

2-2. 침출식 전처리

침출식 전처리는 리그닌 또는 기타성분의 재결합을 최소화할 수 있고, 후압(back pressure)을 통해 용액의 기화를 방지하여 지속적인 고-액 반응을 유도할 수 있으며, 용매를 이용하여 연속적으로 성분들을 분별시키기 때문에 전처리 후 바이오매스와 오르가노솔브의 분리에 용이하다는 장점이 있다. 침출식 전처리의 전체적인 구성도는 Fig. 1에 나타내었다. 전처리 장치는 크게 용매 주입구, 용매 공급 펌프, 온도조절오븐, 반응기, 그리고 질소 봄베로 이루어져 있다. 침출식 반응기는 스테인리스 스틸(SS-316)로 제작되었으며 용매 공급 펌프는 51K40GN-CW (Oriental motor Co., LTD, Japan)을 사용하였다. 반응기에는 옥수수대가 가득 채워지도록 했으며 오르가노솔브와의 고-액비는 1 : 8 (w/v)으로 일정하게 유지했다. 오르가노솔브로서 에탄올(Ethyl alcohol, 99.5%, CAS No. 64-17-5, SAMCHUN)을 이용하였고 30~99.5 wt% 농도 범위에서 전처리 특성을 알아보았으며, 모든 전처리는 촉매의 첨가 없이 진행되었다. 온도 조절에 사용된 오븐은 가스크로마토그래피 오븐인 M600D (Young Lin Co., LTD)를 일부 개조하여 사용하였고, 일정한 반응온도를 나타내도록 유지시켰다. 끓는점이 낮은 에탄올을 사용하였기에 기화를 방지하

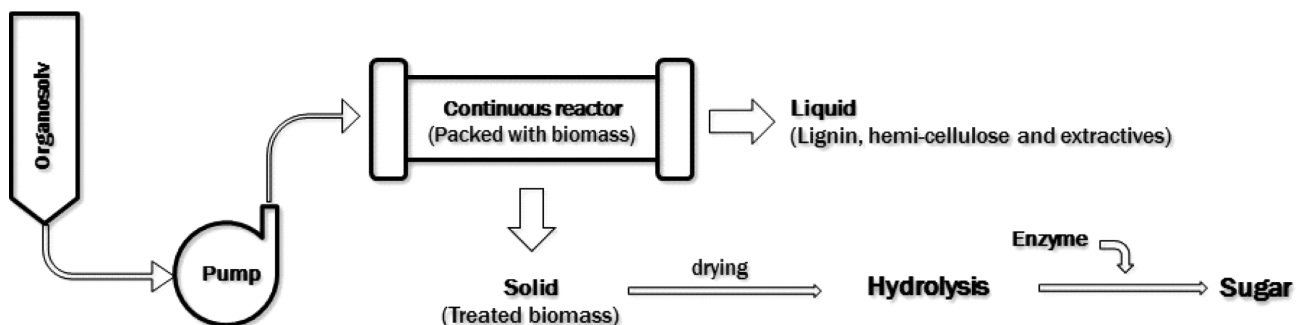


Fig. 1. Schematic diagram of flow-through pretreatment.

고자 질소 봄베를 연결하여 400~600 psig의 후압을 유지함으로써 원활한 고-액 반응이 일어나도록 하였다. 전처리는 150~190 °C의 온도 범위 내에서 20~60분 동안 진행되었다. 전처리 후 획득한 바이오매스에 대해서는 세척 과정 없이 48시간 동안 45 °C 오븐에서 건조한 뒤 당(sugar)과 리그닌에 대한 성분분석을 진행하였고, 효소 당화를 통해 전처리 효과를 평가하였다.

2-3. 물리적 전처리 및 연계형 전처리

물리적 전처리는 마멸분쇄(attrition mill)를 이용하였다. 마멸분쇄기는 한국세라믹기술원에서 보유하고 있는 장비를 사용하였으며 직경 10 mm의 알루미나 볼(alumina ball)을 이용하여 바이오매스와 원활한 접촉을 이루도록 하였다. 건조된 상태로 마멸분쇄기에 주입을 하게 되면 온도조절이 쉽지 않을 뿐만 아니라 마찰열에 의해 구조적으로 변성이 일어날 수 있기 때문에 물리적 전처리를 진행하기 앞서 침지 전처리를 했다. 침지 전처리는 30 wt% 농도의 에탄올을 이용하여 1 : 7 (w/v)의 고-액비로 상온에서 24시간 동안 진행되었다. 침지 전처리를 거친 바이오매스는 건조 과정 없이 마멸 분쇄기에 주입되었으며 30~90분 동안 운전하여 전처리를 진행하였다. 연계형 전처리는 물리적 전처리와 화학적 전처리의 순서를 바뀌가며 진행했다. 물리적 전처리를 선행하는 경우 침지 전처리 후 물리적 전처리를 거친 뒤 170 °C에서 30 wt%에탄올을 이용하여 20분 동안 화학적 전처리를 수행했고, 화학적 전처리를 선행하는 경우 170 °C에서 30 wt% 에탄올을 이용해 40분간 진행했으며 건조과정 없이 마멸분쇄기에 주입했다.

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[6,7]. 전처리가 수행된 바이오매스와 효소당화액은 HPLC (Waters Co., USA)로 분석하였고, 이 때 5 mM의 황산용액을 이동상으로 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 설정하여 분석했다.

2-5. 효소당화

각 조건으로 전처리 된 바이오매스의 효소당화율을 알아보기 위

하여 전처리를 거친 바이오매스와 비교군으로 사용된 α -cellulose 및 Whatman No.1, 그리고 전처리를 수행하지 않은 바이오매스를 이용하여 250 ml 삼각플라스크(Erlenmeyer flask)에서 효소당화를 수행하였다. 각 기질은 sodium citrate buffer solution (0.5 M, pH 4.8)에 기질농도 2% (w/w)로 혼합하고 Cellic C-tec2 (Novozymes, Denmark)를 60 FPU/ml의 활성화도로 접종한 후 50 °C의 진탕배양기(shaking incubator) 내에서 150 rpm의 혼합속도로 72시간동안 효소당화를 수행하였다. 이후 일정 시간 간격으로 시료를 채취하여 HPLC (Waters Co., LTD, USA)로 분석하였다. 분석된 글루코오스 농도(g/L)를 이용한 효소당화율(%; 각 기질의 셀룰로오스 함량 기준)은 다음과 같이 정의 된다.

Enzymatic digestibility (%)

$$= \frac{\text{The amount of glucose released (g)} \times 0.9}{\text{Total initial glucan (g)}} \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3-1. 침출식 오르가노솔브 전처리

초본계 바이오매스에 대해 침지(soaking) 전처리만으로도 충분한 전처리 효과를 나타낼 수 있다는 보고가 있다[8]. 하지만 Table 1에서 침지 전처리의 효소당화율 증가에 대한 효과는 나타나지 않았으며 오히려 리그닌 제거율 27.2%로 감소하였다. 침지 전처리는 24시간 동안 수행되기 때문에 긴 반응시간으로 인해 분별되었던 리그닌 성분들이 셀룰로오스 표면으로 다시 재결합되면서 더욱 강한 물리적 결합으로 인해 리그닌의 제거율을 높이지 못하였다. 한편 펌프를 통해 용매가 주입되기 전 반응기 내부의 온도가 일정 수준에 도달했을 때 반응이 시작되어야 하며, 이 때 소요되는 시간을 승온시간이라 한다. 설정온도를 반응온도보다 10 °C 높게 할 경우 해당 온도에 도달할 때까지 약 50분이 소요된다. 반면 반응온도보다 설정온도를 50 °C 높게 설정할 경우 약 20~25분으로 절반이상 전처리 공정 시간을 단축시킬 수 있었다. 이때의 글루칸의 함량은 29.7%로, 그 차이가 10 °C인 전처리에 비해 글루칸의 손실이 적었지만, 리그닌 제거율은 24.6%로 감소했다. 승온시간이 절반 이상 단축되었기에 성분들이 침출될 수 있는 시간이 줄어들고 이에 따라 글루칸과 XMG의 손실이 줄어들었고 리그닌 제거율도 감소되었다. 하지만 승온시간이 증가하더라도 글루코오스 전환율은 상승되지 못한다. 승온시간이 짧아져도 비슷한 당화율을 나타낼 수 있다면 리그닌의 제거율은 다른 방법으로도 충분히 증가시킬 수 있을 것이라 판단했고, 전처리 시 침지 과정을 생략하고 승온시간을 단축해 공정비용을 절약

Table 1. The component contents and enzymatic hydrolysis of untreated and pretreated biomass on various conditions with flow-through pretreatment

Temp. (°C)	Conc. (wt%)	Time (min)	Soaking*	ΔT^{**} (°C)	Glucan content (%)	XMG content*** (%)	Lignin removal (%)	Glucose conversion (%)	Xylose conversion (%)
170	99.5	20	○	10	26.1	16.2	27.2	49.5	25.8
170	99.5	20	×	10	25.7	15.5	33.8	48.4	25.4
170	99.5	20	×	50	29.7	20.8	24.6	51.9	27.2
150	60	60	×	50	27.9	19.0	49.9	47.4	23.1
170	60	60	×	50	32.8	17.4	62.2	58.0	40.0
190	60	60	×	50	31.3	11.8	75.9	82.0	51.8
Untreated corn stover					34.2	22.4	-	36.1	12.8

*Soaking was performed at room temperature with 99.5 wt% ethanol during 24 hours.

** ΔT is the temperature subtracted reaction temperature from setting temperature.

***XMG content is a sum of xylan, mannan and galactan content.

Table 2. The component contents and enzymatic hydrolysis of untreated and pretreated biomass on various conditions with flow-through pretreatment at 190 °C

Temp. (°C)	Conc. (wt%)	Time (min)	Glucan content (%)	XMG content* (%)	Lignin removal (%)	Glucose conversion (%)	Xylose conversion (%)
190	60	20	30.1	15.3	63.5	67.1	49.2
190	60	40	29.5	11.6	74.5	77.2	56.6
190	60	60	27.9	8.2	83.5	87.0	64.2
190	30	20	26.5	5.1	73.4	89.0	57.2
190	30	40	27.2	3.6	83.4	91.9	66.9
190	30	60	27.1	3.3	84.6	94.3	76.2
Untreated corn stover			34.2	22.4	-	36.1	12.8

*XMG content is a sum of xylan, mannan and galactan content.

할 수 있을 것이라 판단되었다.

반응온도를 비교해보고자 60 wt% 농도의 에탄올을 이용하여 60분 동안 전처리를 진행했을 때 온도범위를 150~190 °C로 설정해 비교해보았다. 글루칸의 함량은 27.9~32.8%로 많은 손실은 없었으나, XMG 함량은 150 °C에서 19.0%였지만 온도가 증가함에 따라 11.8%로 감소하였고, 이에 따라 리그닌 제거율도 49.9%에서 75.9%로 증가했다. 반응온도가 상승할수록 각 성분 사이의 결합을 와해시킬 수 있는 에너지가 증가하기 때문에 셀룰로오스를 둘러싸고 있던 헤미셀룰로오스와 리그닌에 대한 분별이 이루어져 효소당화율을 또한 크게 증가했다. 190 °C에서는 효소당화율의 급증을 확인할 수 있었는데, 이것은 반응온도가 충분히 높아졌기에 성분들의 분별이 많이 이루어져 효소의 기질접근성이 높아졌기 때문이라 판단된다.

Table 2는 옥수수대를 190 °C에서 30~60 wt% 농도의 에탄올을 이용하여 20~60분 동안 전처리 한 결과이다. 60 wt% 에탄올을 이용한 전처리에서는 반응시간이 증가함에 있어서 XMG와 리그닌이 제거되는 것을 확인할 수 있었지만, 이에 따라 글루칸도 소량 손실되었다. 하지만 30 wt% 에탄올을 이용한 전처리에서는 이전보다 더 높은 비율로 XMG와 리그닌이 제거되었지만 글루칸의 함량에는 큰 차이가 없었다. 글루칸의 함량과 리그닌 제거율이 비슷하더라도 XMG의 함량이 더 낮은 옥수수대에서 효소당화율이 높았으며 최고 글루코오스 전환율은 94.3%로, 30 wt% 농도의 에탄올을 이용하여 60분간 반응한 옥수수대에서 나타났다. 60 wt% 에탄올보다 30 wt% 에탄올을 이용한 전처리에서 XMG함량이 낮고 리그닌 제거율이 높아진 것은 낮은 농도의 에탄올일수록 수분의 함량이 높기 때문에 고온에서 물 분자가 분해가 되면서 약산성을 띠게 되기 때문이라고 할 수 있다[9,10]. 이 효소당화를 24시간마다 샘플을 채취하여 분석한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 60 wt% 에탄올을 사용하여 전처리를 했을 경우, 매 시간마다 증가하는 것을 볼 수 있다. 하지만 30 wt% 에탄올을 사용했을 경우 최종 글루코오스 전환율은 89.0~94.3%로 24시간 후의 값과 약 2~3%밖에 차이 나지 않았으며, 최고 글루코오스 전환율은 당화시작 후 48시간이 경과했을 때 나타났다. 하지만 이 값도 24, 72시간 후 나타난 값과 차이가 거의 나지 않았다. 30 wt% 에탄올을 이용하여 전처리 한 뒤 효소당화를 24시간만 진행하더라도 충분한 효소당화율을 얻을 수 있었으며, 이때의 글루코오스 전환율은 86.6~91.6%로 나타났다. 자일로오스 전환율 또한 이와 같은 경향을 나타냈고, 190 °C, 30 wt%, 60 min의 전처리 조건에서 최종 당화율은 76.2%로, 가장 높은 값을 나타냈다. 기존의 연구에서는 효소당화시간이 약 2~5일 정도 소요되는 것으로 알려져 있었지만, 이 전처리를 통해 효소당화의 시간까지도 단축시킬 수 있었다.

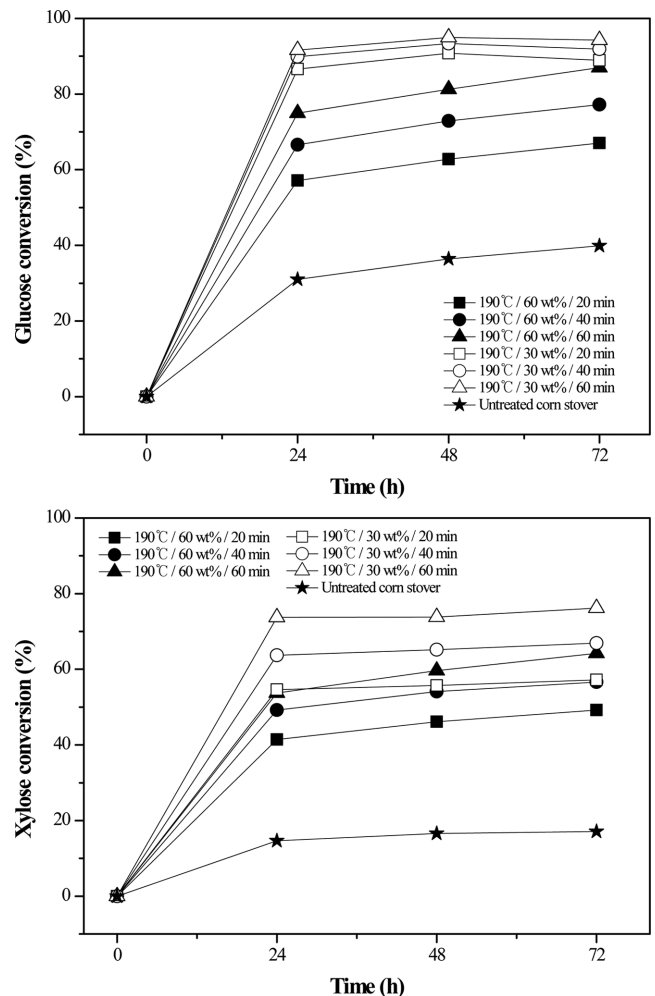


Fig. 2. The enzymatic hydrolysis of untreated and pretreated corn stover, which was performed during 72 hours.

3-2. 연계형 전처리

연계형 전처리는 화학적 전처리인 침출식 전처리와 물리적 전처리인 마멸 분쇄를 이용하여 순서를 바꿔가며 진행하였다. Table 3에서는 1차적으로 화학적 전처리를 한 뒤 물리적 전처리를 진행한 결과이며, 1차 전처리인 침출식 전처리에 대한 결과와 비교하였다. 침출식 전처리만을 진행했을 때 전처리를 하지 않은 옥수수대에 비해 XMG와 리그닌의 함량이 약 절반정도로 감소되었다. 이후 물리적 전처리를 진행했을 때는 글루칸은 약 1~3%만이 손실되었고, XMG의

Table 3. The component contents and enzymatic hydrolysis of untreated and pretreated biomass with flow-through and physico-chemical pretreatment

Pretreatment method	Temp. (°C)	Conc. (%)	Chemical Time* (min)	Mechanical Time** (min)	Glucan content (%)	XMG content (%)***	Lignin removal (%)	Glucose conversion (%)	Xylose conversion (%)
Flow-through	170	30	40	-	27.3	12.9	50.5	76.3	46.0
	170	30	40	30	24.7	13.1	57.3	92.1	51.5
Chemical to Mechanical	170	30	40	60	24.1	13.3	60.7	71.9	40.6
	170	30	40	90	26.4	12.5	60.5	76.4	49.6
Untreated corn stover					34.2	22.4	-	36.1	12.8

*Chemical time is a flow-through process time.

**Mechanical time is a operating time of attrition mill.

***XMG content is an sum of xylan, mannan and galactan content.

Table 4. The component contents and enzymatic hydrolysis of untreated and pretreated biomass on various conditions with physico-chemical pretreatment

Pretreatment method	Temp. (°C)	Conc. (wt%)	Chemical Time* (min)	Mechanical Time** (min)	Glucan content (%)	XMG content (%)***	Lignin removal (%)	Glucose conversion (%)	Xylose conversion (%)
Soaking	25	30	24 h	-	29.9	19.5	4.3	41.4	18.8
	25	30	-	30	26.7	17.8	14.1	47.4	23.7
Attrition mill	25	30	-	60	26.2	18.2	14.6	46.8	22.9
	25	30	-	90	27.6	18.7	14.2	48.0	24.3
Flow-through	170	30	20	-	28.0	15.3	54.5	66.0	39.7
	170	30	20	30	22.2	13.0	61.0	78.7	49.0
Mechanical to chemical	170	30	20	60	21.3	12.9	58.5	79.3	46.1
	170	30	20	90	21.3	13.7	56.7	74.4	44.5
Untreated corn stover					34.2	22.4	-	36.1	12.8

*Chemical time is a flow-through process time.

**Mechanical time is an operating time of attrition mill.

***XMG content is a sum of xylan, mannan and galactan content.

함량의 변화는 거의 없었다. 반면 리그닌의 제거율은 57.3~60.7%로 나타났는데, 화학적 전처리를 거치면서 느슨해진 성분들 간의 결합이 표면이 거친 알루미늄아 불에 의해 접촉하면서 일부 제거되었다. 연계형 전처리의 최고 글루코오스 전환율은 170 °C, 30 wt%, 40 min 조건의 화학적 전처리에서 30분 동안 물리적 전처리를 거쳤을 때 92.1%로 나타났다. 하지만 물리적 전처리의 시간이 60분으로 증가했을 때 글루코오스 전환율은 71.9%로 감소된 것을 볼 수 있는데, 이는 화학적 전처리에 의해 팽윤되었던 구조가 물리적 전처리의 시간이 길어짐에 따라 불과 바이오매스간의 접촉이 많아져 구조적인 협착에 의해 효소당화율이 감소한 것으로 보인다.

Table 4는 물리적 전처리를 선행한 뒤 화학적 전처리를 한 결과를 나타내었다. 건조된 바이오매스가 마멸분쇄를 거치게 되면 반응온도 조절이 쉽지 않을 뿐만 아니라 구조적인 변성이 일어날 가능성이 있기에 침지 전처리를 한 바이오매스를 주입했다. 침지 전처리는 30 wt% 에탄올을 이용하여 상온(25 °C)에서 24시간 동안 진행했다. 연계형 전처리의 결과는 물리적 전처리와 화학적 전처리를 각각 독립적으로 한 바이오매스와 비교하였다. 물리적 전처리는 침지 전처리와 같은 온도, 농도 조건으로 진행했고 운전시간을 30~90분으로 설정하여 진행하였다. 화학적 전처리는 170 °C에서 30 wt% 에탄올을 이용해 20분 동안 진행되었으며 연계형 전처리는 화학적 전처리를 거친 바이오매스를 건조과정 없이 주입하여 30~90분 동안 수행되었다. 30 wt% 에탄올에 의해 침지 전처리를 거친 바이오매스의 글루칸과 XMG 함량은 각각 29.9%, 19.5%로 나타났다. 침지 전처리를 통해 획득한 바이오매스를 마멸분쇄를 이용하여 전처리를 진행했을 때 운전시간에 따른 글루칸과 XMG, 리그닌의 함량의 비율은 거의 변하지 않았다. 화학적 전처리만을 진행하여도 글루칸 함량의 변화는

거의 없었으나, XMG의 함량은 15.3%로 나타났고 리그닌은 초기 바이오매스 대비 54.5%가 감소하였다. XMG와 리그닌이 감소함에 따라 셀룰로오스의 구조가 표면으로 드러나게 되어 글루코오스 전환율도 66.0%로 증가하였다. 연계형 전처리를 통해 나온 바이오매스의 성분들의 함량의 차이는 물리적 전처리의 운전시간에 상관없이 비슷한 수준을 유지했다. 효소당화 결과 글루코오스 전환율은 74.4~79.3%로 나타났는데, 화학적 전처리만을 거친 바이오매스의 글루코오스 전환율보다 최대 13.4% 증가하였다.

두 가지 순서에 따라 전처리를 진행한 결과 화학적 전처리를 선행한 뒤 물리적 전처리를 진행하는 방법이 가장 효과적이었다. 전처리에 걸리는 시간 또한 이 방법이 매우 짧으며, 190 °C에서 독립적으로 진행한 화학적 전처리에 상응하는 글루코오스 전환율을 얻을 수 있었다.

4. 결 론

오르가노솔브를 이용한 침출식 전처리에 앞서 침지 전처리를 선행하였는데, 글루칸과 XMG의 함량의 변화는 없었지만 리그닌 제거율은 오히려 감소했다. 침지 전처리가 진행됨에 따라 긴 시간으로 인해 리그닌이 재결합하여 나타난 현상이라고 판단되었고, 침지 전처리를 하지 않아도 효소당화율에는 변화가 없었다. 한편 승온시간을 단축시켰을 경우 효소당화율에는 큰 차이가 없었지만 시간이 단축됨에 따라 리그닌이 분별될 시간을 충분히 확보하지 못했기 때문에 리그닌 제거율이 9.2% 감소했다. 반응온도를 190 °C로 증가시켜 전처리 했을 경우 82.0%라는 글루코오스 전환율을 확보했고 에탄올을 이용한 옥수수대의 침출식 전처리에서는 반응온도가

190 °C는 되어야 충분한 효소당화율을 확보할 수 있을 것으로 보인다. 이 반응온도에서 에탄올의 농도를 낮추고 반응시간에도 변화를 주어 진행했을 경우 반응시간이 증가하고 에탄올 농도가 낮을수록 효소당화율이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 에탄올 농도가 낮아짐에 따라 함유되어있던 수분에 의해 열수효과가 나타나게 되어 성분들의 분별이 잘 이루어졌지만 에탄올의 특성 상 헤미셀룰로오스와 리그닌에 대한 분별이 더 잘 이루어지기 때문에 글루칸의 손실은 거의 없었다. 최고 글루코오스 전환율은 190 °C에서 30 wt% 농도의 에탄올을 이용하여 60분 동안 전처리 된 옥수수대에서 나타났으며, 효소당화를 24시간만 하더라도 90% 이상의 전환율이 나타나는 것으로 보아 전체 공정 시간을 단축시킬 수 있을 것으로 판단된다. 공정비용의 감축을 위해서 수행한 연계형 전처리에서는 170 °C, 30 wt%, 40 min의 조건에서 침출식 전처리를 거친 뒤 30분 동안 물리적 전처리를 한 옥수수대에서 글루코오스 전환율이 92.1%로 가장 높게 나왔다. 물리적 전처리보다 화학적 전처리를 선행하는 것이 상대적으로 반응시간이 짧기 때문에 전체 공정시간을 고려했을 때 경제적이라고 할 수 있으며, 190 °C, 60 min의 조건보다 낮은 화학적 전처리의 반응온도와 반응시간으로도 효소당화율이 증가하는 것으로 보아 전처리 연계 가능성을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 2017학년도 경기대학교 학술 연구비(일반연구과제; 2017-032) 지원에 의하여 수행되었음.

References

1. Lee, A. Y. and Koo, J. K., "Intermediate Indicators and Sustainability of Renewable Fuel Standard," *Journal Organic Resource*
2. 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).
3. Kim, J. S., "The Characteristics of Alkaline Pretreatment Methods of Cellulosic Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.*, **51**(3), 303-307(2013).
4. Kim, T. H. and Lee, Y. Y., "Pretreatment and Fractionation of Corn Stover by Ammonia Recycle Percolation Process," *Biore-source Technology* **96**(18), 2007-2013(2005).
5. Kim, H. J., Lee, S. S., Kim, J. B., Mitchell, R. J. and Lee, J. H., "Environmentally Friendly Pretreatment of Plant Biomass by Planetary and Attrition Milling," *Biore-source Technology* **144**, 50-56(2013).
6. Raymond, R. and Ehrman, T., "Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography," Laboratory Analytical Procedure No. 002, National Renewable Research Laboratory(1996).
7. Templeton, D. and Ehrman, T., "Determination of Acid-insoluble Lignin in Biomass," Laboratory Analytical Procedure No. 003, National Renewable Research Laboratory(1995).
8. 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).
9. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzap-ple, M. and Ladisch, M., "Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass," *Biore-source Technology*, **96**(6), 673-686(2005).
10. Weil, J., Brewer, M., Hendrickson, R., Sarikaya, A. and Ladisch, M. R., "Continuous pH Monitoring During Pretreatment of Yellow Poplar Wood Sawdust by Pressure Cooking in Water," *Bio-technology for Fuels and Chemicals. Humana Press*, 99-111(1998).