

자기가수분해 처리가 산업용 대마 목부 바이오매스의 효소 당화에 미치는 영향

*,**신 수정¹⁾, 유 주현²⁾, 이 수민³⁾, 조남석⁴⁾

Enzymatic saccharification of autohydrolyzed industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) lignocellulosic biomass

*,**Soo-Jeong Shin, Ju-Hyun Yu, Soo-Min Lee, Nam-Seok Cho

Key words : Industrial hemp (*Cannabis Sativa* L.) (산업용 대마), autohydrolysis(자기가수분해), biomass pretreatment (바이오매스 전처리), enzymatic saccharification(효소 당화), xylan (자이란), cellulose (셀룰로오스)

Abstract : Autohydrolysis at different temperature levels was applied as industrial hemp pretreatment technique for glucose generation. Main structural components removed by autohydrolysis was xylan, which is more sensitive in acidic hydrolysis condition than cellulose or lignin. Higher temperature reaction conditions promoted more biomass components (xylan) removal than lower temperature, which led to better respond to enzymatic saccharification of residual biomass after autohydrolysis. With 185°C and 60 min, saccharification degree was 53.0% of cellulose in hemp woody core biomass.

1. 서론

화석연료의 고갈과 지구 온난화로 인하여 지속적인 생산이 가능한 에너지원에 대한 관심이 커져 가고 있다. 식물 바이오매스 자원은 대기 중에 있는 이산화탄소를 이용하여 광합성을 한 다음 그 자원을 다시 이용하는 것은 탄소중립적인 것이어서 대기 중의 이산화탄소의 농도 증가에 영향을 미치지 않을 것이다. 따라서 버려지는 땅에 급속생장이 가능한 목질계 바이오매스를 재배하여 이용한다면 이산화탄소 농도 증가를 완화시킬 수 있을 것이다.

에너지작물의 개념은 바로 이러한 아이디어에 기초하고 있다. 따라서 초기 생장이 빠른 수종이나 일년생 초본류를 대상으로 하여 주기적으로 재배함으로써 태양에너지를 목질계 바이오매스 형태로 저장하는 시도가 전 세계적인 트렌드가 되고 있는 현실이다. 산업용 대마는 환각 성분의 함량이 낮고 바이오매스의 생산능력이 뛰어나 에너지 작물 후보로 많은 연구가 진행 중이다.^{1,2)}

산업용 대마 바이오매스는 약 33%의 인피 섬유와 67%의 목질 바이오매스로 구성되어 있다.¹⁾ 이 중 껍질에 해당되는 인피 섬유는 삼베 제조에 사용되고 나머지 목질부분은 현재 용도가 없다. 시오. 따라서 본 연구에서는 이런 목부 목질 바이

오매스의 당화 기술을 개발하여 에탄올계 바이오 에너지 생산이나 포도당을 기초로 하는 바이오 리파이너리 산업의 원료 공급에 기여하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

충남 당진군 농업기술센터의 도움으로 4월에 파종하여 8월에 수확한 산업용 대마 시료를 공급 받았다. 이런 시료를 손으로 인피 섬유와 목부

-
- 1) 충북대학교 농업생명환경대학 목재 종이과학전공
E-mail : soojeongesf@gmail.com
Tel : (010-5530-1083 Fax : (043)273-2241
 - 2) 한국화학연구원 신화학연구원 바이오정밀화학센터
E-mail : jhyu@kriect.re.kr
Tel : (042)860-7026 Fax : (042)861-4913
 - 3) 국립산림과학원 임산공학과 미생물화학과
E-mail : lesoomin@forest.go.kr
Tel : (02)-961-2743 Fax : (02)-961-2796
 - 4) 충북대학교 농업생명환경대학 목재 종이과학전공
E-mail : nscho@chungbuk.ac.kr
Tel : (043)261-2542 Fax : (043)273-2241

바이오매스로 분리한 다음 목부 바이오매스를 분쇄하여 40mesh 이하를 본 실험에 사용하였다.

2.2 실험 방법

2.2.1 자기가수분해

자체 제작한 스테인레스 반응기에 2.5g의 대마 목부 바이오매스와 50ml의 물을 넣고 원하는 반응시간과 반응 온도에서 반응시킨 후 여과 하여 반응중 물에 녹은 가용성 부분은 제거하고 나머지 녹지 않는 부분을 회수하여 효소 가수분해에 사용하였다. 반응 온도는 170°C, 175°C, 180°C, 185°C로 다르게 하였고 반응 시간은 30분과 한 시간으로 다르게 하여 자기가수분해에 의한 목질 바이오매스 분해 정도를 측정하였다.

2.2.2 효소 가수분해

자가수분해 반응을 거친 녹지 않는 바이오매스를 170ml의 0.05M sodium acetate buffer 용액과 함께 250ml의 삼각 플라스크에 넣은 후 121°C에서 20분간 멸균한 다음 식힌 후 교반 반응기에 넣고 45°C를 유지하였다. 온도가 평형에 도달한 다음 셀룰로오스 분해 효소 중 Novozyme사에서 상업용으로 시판하고 있는 Cellulast 1.5L 0.8ml와 Novozym 342 효소 0.2ml를 각각 삼각 플라스크에 첨가 한 다음 효소 가수분해 반응을 실시하였다. 실시 후 2, 4, 10, 24, 48 시간에 각각 효소 분해 정도를 알아보기 위하여 시료를 채취한 다음 즉시 냉장조에 보관하였다.

2.2.3 당분석

효소 가수분해 후 당화액의 당분석은 당화액 200 µL를 900 µL의 acetonitrile과 증류수 혼합용액 (5:5, 부피비)으로 희석한 다음 원심 분리하여 침전물을 제거한 다음 당분석에 사용하였다. ELSD(evaporative light scattering detector, Alltech model ELSD 2000; Tube temp. 80°C, gas flow 2.0L/min, gain 4)조건으로 당을 검출하였고 HPLC에서 용매의 농도를 일정하게 유지 하였고 apHera™ NH₂ column (4.6 mm i.d. × 250 mm, SUPELCO), 컬럼을 사용하였으며 이동상은 acetonitril/증류수 혼합액 (80:20, 부피비)를 사용하였고 유속은 1.2nl/min을 유지하였다. 이때 보유 시간은 xylose가 7.9분에서 glucose가 12.0분에서 검출되었다.

목질 바이오매스내 당분석은 산 가수분해 후 분해액을 ¹H-NMR 분석을 통하여 조성을 분석하였다.³⁾

3. 결과 및 고찰

3.1 자기가수분해 후 목질 바이오매스내 탄수화물 조성 변화

사용한 대마 목부 바이오매스의 화학적 조성은 에탄올-벤젠에 녹는 추출물 함량이 2.1%, 끓는물에 녹는 추출물 함량이 9.1%이고 구조적인 성분이 리그닌과 다당류의 함량은 각각 17.2%와

71.6% 였다.⁽¹⁾

자가가수분해에 의한 목질바이오매스의 손실은 표 1과 같다. 온도가 높아지거나 반응시간이 길어짐에 따라 더 많은 바이오매스 성분이 용해되어 제거되었다. 30분 처리의 경우 온도가 증가함에 따라 바이오매스가 더 많이 제거 되었지만 60분 처리에서는 온도 증가에 의한 바이오매스 성분의 제거 정도의 차이가 현격하게 줄어들었다.

Table 1 Hemp woody core biomass removal by autohydrolysis

| | biomass removal (%) | |
|-------|---------------------|--------|
| | 30 min | 60 min |
| 170°C | 17.5 | 29.3 |
| 180°C | 23.7 | 30.7 |
| 185°C | 25.5 | 31.1 |

잔류 바이오매스내 당 구성을 알아보기 위하여 산 가수분해 후 당화액을 NMR 분석을 통하여 확인하였다. Fig 1에서 당화액의 anomeric hydrogen peak 분석에 의한 당 조성을 분석하는데 필요한 spectrum을 보여 주고 있다. 이런 당 분석 결과 목질 바이오매스 다당류중 자기가수분해 반응 온도와 시간이 증가 함에 따라 자이란의 감소가 뚜렷하게 나타났다(표 2). 60분 자기 가수분해 처리재의 경우 바이오매스 제거 정도의 차이가 작았지만 이런 처리 조건에서도 온도 증가에 따른 차이란 감소 경향은 뚜렷하게 지속되었다.

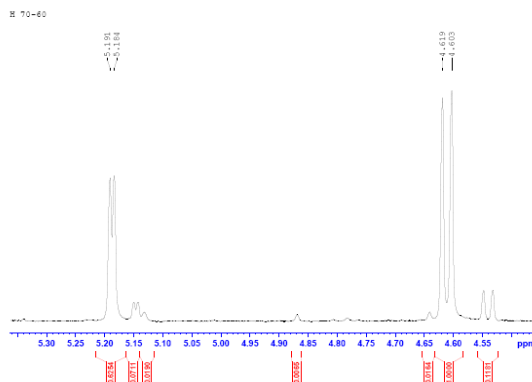


Fig. 1 NMR spectrum of anomeric hydrogen peak from glucose and xylose

Table 2 Polysaccharide composition changes induced by autohydrolysis

| | cellulose to xylan ratio | |
|-----------|--------------------------|----------------|
| | 30 min treated | 60 min treated |
| untreated | 67.6 : 32.4 | |
| 170°C | 74.3 : 25.7 | 86.9 : 13.1 |
| 180°C | 77.7 : 22.3 | 91.0 : 9.0 |
| 185°C | 83.9 : 16.1 | 96.6 : 3.4 |

3.2 자기가수분해 반응이 효소 당화에 미치는 영향

자가가수분해의 전처리 효과가 효소 당화에 미치는 영향을 확인하기 위하여 자기 가수분해 처리 후 남아 있는 바이오매스 부분을 효소 당화를 실시한 다음 당화액을 HPLC를 사용하여 단당류 분석을 실시하였다. 30분 동안 자기 가수분해 처리한 시료의 경우 당화율이 170℃ 경우 180℃ 나 185℃ 보다 낮았다. 자기가수분해에 의한 목질 바이오매스 성분 중 제거 되는 부분 처리가 다음 단계의 효소 당화에 적절한 조건을 만들어 주기 때문으로 생각된다.

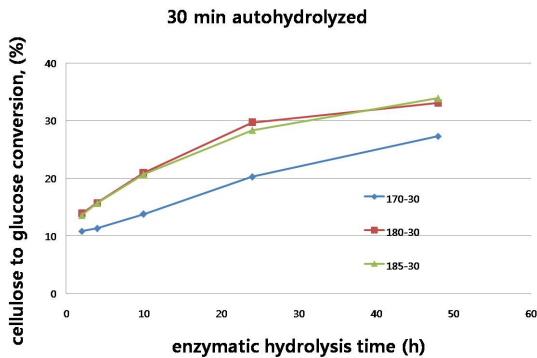


Fig. 2 Enzymatic saccharification of autohydrolyzed hemp woody biomass (30 min treated)

60분 처리의 경우에도 30분 처리와 마찬가지로 당화율이 170℃ 경우 180℃나 185℃ 보다 낮았다. 처리 시간이 증가함에 따라 3가지 온도 조건에서 모두 당화율이 30분 보다 증가 하였다. 처리 시간과 처리 온도에 의한 바이오매스 성분 제거와 자이란 제거의 두가지 함수가 모두 효소 당화의 효율에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

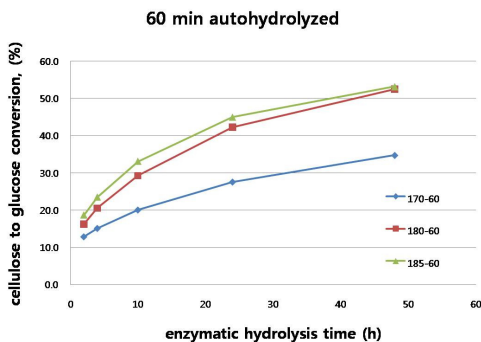


Fig. 3 Enzymatic saccharification of autohydrolyzed hemp woody biomass (60 min treated)

4. 결론

자기 가수분해 처리에 의한 대마 목부 목질 바이오매스의 성분이 분해 되어 수용성으로 전환되고 고체 바이오매스 성분으로부터 제거되었다. 바이오매스 다당류 성분중에는 자이란이 자기가수분해 반응에 더 민감하게 반응하였다. 이렇게 수용성으로 제거된 목질 바이오매스 성분으로 인하여 다음 단계의 효소 당화 반응이 촉진되었다. 180~185℃에서 한 시간 자기가수분해 반응 후 상업용 셀룰라아제를 사용한 효소 당화에서 셀룰로오스의 절반 이상이 포도당으로 당화됨을 확인하였다.

후기

본 연구는 한국학술진흥재단의 학문후속세대 양성 사업(KRF-2006-353-F00006)의 연구 지원에 의하여 수행되었습니다. 산업용 대마 시료를 공급하여 주신 충남 당진군 농업기술센터 심화섭 계장님께 고마운 마음을 표합니다.

References

- [1] Shin, S.-J., Han, G.-S., Choi, I.-G. and Han, S.-H., 2008, "Chemical characterization of industrial hemp (*Cannabis sativa*) biomass as biorefinery feedstock," Korean J. Plant Res. Vol. 21, No. 3, pp 222-225
- [2] 신수정, 한규성, 심화섭, 안병국, 2008, "산업용 대마 목부를 이용한 고밀화 펠릿 연료 제조", 한국 신·재생에너지학회 2008년도 춘계학술대회논문집 pp. 221-224
- [3] Shin, S.-J. and Cho, N.-S., 2008, "Conversion factors for carbohydrate analysis by hydrolysis and ¹H-NMR spectroscopy," Cellulose Vol. 15, pp. 255-260