

전자빔 조사 처리가 백합나무 효소 당화에 미치는 영향

신 수정¹⁾, 성 용주²⁾, 한 규성³⁾, 조 남석⁴⁾

Impact of electron beam irradiation on enzymatic saccharification of yellow poplar (*Liriodendron tulipifera* L)

Soo-Jeong Shin, Yong-Joo Sung, Gyu-Seong Han, Nam-Seok Cho

Key words : Electron beam (전자 빔), Yellow poplar (백합나무), Enzymatic saccharification (효소 당화), Cellulase (셀룰라아제), Pretreatment (전처리), Xylan (자이란), Cellulose (셀룰로오스)

Abstract : The electron beam irradiation was applied as a pretreatment of the enzymatic hydrolysis of yellow poplar with doses of 0~450 kGy. The higher irradiation dose resulted in the more degradation of hardwood biomass not only from carbohydrates but also from lignin. This changes originated from the irradiation resulted in the better response to enzymatic hydrolysis with commercial cellulases (Celluclast 1.5L and Novozym 342). The more improvement on enzymatic hydrolysis by the irradiation was found in the xylan than in the cellulose of yellow poplar.

1. 서론

화석 연료의 고갈과 지구 온난화 현상의 심화로 인하여 지속 생산 가능한 자원에 대한 관심이 커져 가고 있다. 목질 바이오매스 자원이 그 대안의 하나로 부각되고 있다. ^{(1),(2),(3),(4),(5),(6),(7)} 목질 바이오매스 자원을 구성하고 있는 포도당을 효과적으로 분리 사용할 수 있다면 다양한 발효 균주를 사용하여 바이오 에탄올이나 석유 화학 중간 물질로 전환이 가능한 succinic acid, lactic acid 또는 polyhydroxyalkonates(PHA) 물질을 생산 할 수 있다. 현재 미국에서는 옥수수 전분을 이용하여 바이오 에탄올이나 1,3-propanediol을 생산하고 있다.

전분계 자원을 이용하는 경우 식량 자원과 경쟁을 하게되어 농산물 가격 폭등을 불러 일으키고, 또 전분계 자원을 생산하는데 고 에너지 형태의 석유 화학 유래 제조제나 농약을 사용하기 때문에 전체적인 화석연료 대체 효과나 지구 온난화 가스 저감 효과는 적은 편이다. 이에 비하여 목질계 탄수화물을 단당류로 전환 시킨후 바이오 에탄올이나 석유 화학 중간 물질을 생산 한다면 바이오매스 재배 기간중 석유 화학 유래 제품의 사용이 적고, 식량자원 재배와 비경쟁적이기 때문에 농산물 가격 폭등과도 상대적으로 무관하다.

목질계 바이오매스는 수종에 따라 차이가 있지만

약 40-50% 정도의 셀룰로오스와 15-30% 정도의 헤미셀룰로오스 그리고 17-30% 정도의 리그닌과 기타 미량 성분들로 구성되어 있다. 셀룰로오스는 포도당이 베타 결합을 하고 있는 탈수축합 반응에 의한 생성물로 중합도가 10,000-15,000 정도이다. 칩업수 헤미셀룰로오스 성분은 주로 글루코 만난으로 포도당과 만노스가 결합 하고 있는 공중합체이다. 활업수 헤미셀룰로오스 주성분은 자이로스가 베타 결합을 하고 있는 자이란 이다. 이들 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스가 단당류의 탈수 축합에 의하여 생성된 탄수화물 고분자체 이다. 이런 탄수화물 고분자체

1) 충북대학교 농업생명환경대학 산림과학지역건설공학부

E-mail : soojeongesf@hanmail.net

Tel : (043)261-2540 Fax : (043)273-2241

2) KT & G 중앙연구소 담배연구소

E-mail : yosung17@gmail.com

Tel : (042)866-5583 Fax : (02)123-9876

3) 충북대학교 농업생명환경대학 산림과학지역건설공학부

E-mail : wood@chungbuk.ac.kr

Tel : (043)261-2807 Fax : (043)273-2241

4) 충북대학교 농업생명환경대학 산림과학지역건설공학부

E-mail : nscho@chungbuk.ac.kr

Tel : (043)261-2542 Fax : (043)273-2241

를 효과적으로 단당류로 전환 시킬 수 있다면 바이오 에너지와 바이오 리파이너리 분야에 효과적인 원료 공급이 가능해 질 것이다.

초기 생장이 빠른 나무를 재배하여 에너지 작물화 하는 연구들이 시도되고 있다. 에너지 작물로 재배된 바이오매스 자원을 이용한다면 지구 생태계에 대한 부정적인 영향 없이 바이오매스 자원을 이용한 석유 대체가 가능할 것이다.^{(8),(9),(10)}

따라서 본 연구에서는 효과적인 단당류 자원 확보를 위한 연구로 초기 생장이 빨라서 에너지 작물 후보로 적합하며, 국내 대표적인 조림 추천수종인 백합나무의 효소 당화에 당 생산 효율을 향상시키기 위하여 전자 빔 조사 처리를 하여 복잡한 목질 바이오매스 구조의 부분적인 파괴를 유도하고 그 파괴가 산업용 셀룰라아제 효소 처리를 통한 효소당화에 미치는 영향을 분석하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시 수종

충북대학교 구내에서 자라고 있는 20년생 백합나무(*Liriodendron tulipifera* L.)를 2007년 1월에 잘라 껍질을 벗긴 후 목분 제조기를 이용하여 40 mesh 이하의 목분을 제조하여 전자 빔 처리에 사용하였다.

2.2 전자 빔 처리

백합나무 목분을 폴리에틸렌 봉지에 넣은 후 0, 150, 300, 450 kGy 수준에서 전자 빔을 조사하였다. 전자 빔 조사기는 대전에 있는 EB-TECH사의 ELV-8형 조사기(2.5 MeV, 50 mA)를 사용하였으며 같은 온도와 습도에서 각 시료를 같은 시기에 처리하였다. 전자 빔 통과 컨베이어의 속도는 5 m/min로 전자 가속기를 통과 하였고 이때 전류는 13.9 mA이었으며 이때 전자 빔 조사 강도는 30 kGy 수준이었다.

2.3 전자 빔 처리 후 분해 산물 분석

전자빔 처리된 목분 2.0g (건조 질량 기준)을 1% 수산화나트륨 20ml와 혼합한 다음 75 °C에서 두 시간 동안 반응시켜 전자빔 처리로 인한 분해 산물을 추출한 후 여과지로 여과한 후 잔류물의 질량을 측정하여 전자 빔 처리에 의한 바이오매스의 분해 정도를 측정하였다.

알칼리 추출후 남은 바이오매스를 72% 황산으로 20°C에서 두시간 가수분해 후 3%로 희석하여 4시간 동안 100°C로 2차 가수분해를 실시한 후 남은 성분을 정량하여 리그닌 함량을 구하고 가수분해 된 부분을 holocellulose로 정량하였다.

2.4 효소 가수분해

전자 빔 처리된 목분 2.5g (건조 중량 기준)을 170ml의 0.05M sodium acetate buffer 용액과 함

께 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 Novozyme 사에서 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, 72 시간에 각각 효소 분해 정도를 알아보기 위하여 시료를 채취한 다음 즉시 냉장고에 보관하였다.

2.5 당 분석

냉장 보관중이 효소 가수분해 액을 121 °C에서 20분간 멸균한 다음 식힌 후 원심 분리하여 불순물을 제거한 다음 0.45 μm의 친수성 syringe filter를 사용하여 여과 한 당화액을 음이온 교환 크로마토그래피 기기를 사용하여 분석하였다.⁽¹¹⁾

3. 결과 및 고찰

3.1 백합나무 바이오매스의 구성 성분

미국 국립 재생 에너지 실험실 (National Renewable Energy Lab) 실험법에 따라 목질 바이오매스의 성분을 분석한 결과 유기 용매 추출물 함량은 2.0%, 끓는 물 추출물 함량은 15.9%, 리그닌 16.0%,그리고 탄수화물 함량은 66.1%이었다. 탄수화물 중 셀룰로오스가 46.1%를 차지하고 자이탄 함량은 22.0%를 차지하였다.

3.2 전자빔 처리에 의한 바이오매스 분해

전자 빔 조사 수준이 높을수록 바이오매스의 분해가 더 크게 나타났다. 알칼리 추출에서 저분자량의 탄수화물과 리그닌 분해 산물이 추출되는데 전자 빔 조사 처리후 알칼리 추출물 함량이 조사량 수준이 증가함에 따라 일정하게 증가하는 경향을 보였고 이는 고분자량의 탄수화물 성분인 holocellulose와 페놀성 고분자 물질인 리그닌의 분해에 의한것인데 탄수화물의 분해가 더욱 뚜렷하게 나타났다 (표 1)

Table 1 Chemical compositions of electron beam irradiated yellow poplar woodmeal

	alkaline extracted (%)	holocelluloses*1 (%)	lignin*1 (%)
0 kGy	23.0	61.6	15.4
150kGy	26.4	58.4	15.2
300kGy	30.5	55.1	14.4
450kGy	33.8	53.8	12.4

*1: alkaline extracted biomass basis

3.3 바이오매스 분해 정도가 효소 가수분해 향상에 미치는 정도

전자 빔 조사 처리가 셀룰로오스의 효소 가수분해를 향상 시켰는데 150 kGy 수준 처리에서는 그 효과가 거의 나타나지 않았지만 300 kGy와 450 kGy 조사 수준에서는 뚜렷하게 포도당 생성이 증가함을 알 수 있었다 (그림 1)

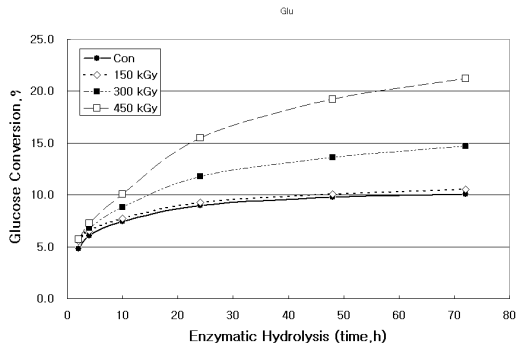


Fig 1. Improved enzymatic saccharification of cellulose in yellow poplar by electron beam treatment

자이란의 경우 셀룰로오스와 달리 150 kGy 수준 처리에서부터 전자 빔 처리에 의한 효소 가수분해에 의한 자이로스 생성이 증가 됨을 알 수 있고 그 효과는 450 kGy 조사 수준에서는 더욱 확연하게 나타났다. (그림 2) 전자 빔 조사에 의한 자이란의 당화 효율 증가가 셀룰로오스의 당화 효율 증가 보다 더 높음을 알 수 있었다.

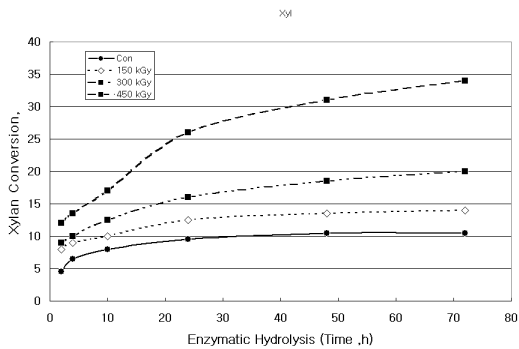


Fig2. Improved enzymatic saccharification of xylan in yellow poplar by electron beam treatment

목질 바이오매스내 전체 탄수화물의 당화 효율을 분석한 결과 150 kGy 조사 수준에서는 무처리 수준과 큰 차이를 보이지 않았지만 (당화 전환율 ~10%) 300 kGy 조사 수준과 450 kGy 조사 수준에서 각각 21%와 34%로 당화 전환율이 급격하게 증가함을 알 수 있었다.

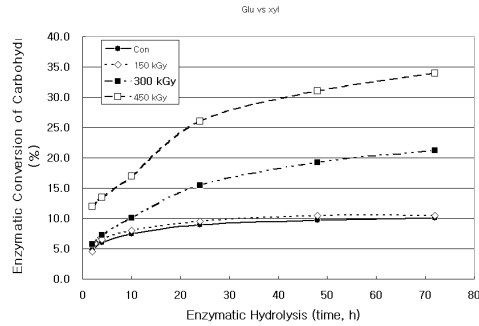


Fig 3. Improved enzymatic saccharification of carbohydrates in yellow poplar by electron beam treatment

4. 결론

전자 빔 조사 처리가 백합나무 목분의 효소 가수분해에 의한 당화에서 당화 효율을 증가시킴을 알 수 있었다. 전자 빔 조사 수준이 높을수록 당화 효율의 증가에 더 크게 영향을 미쳤고 셀룰로오스 보다는 자이란에서 이런 경향이 더욱 뚜렷하게 나타났다. 450 kGy 조사 전자 빔 처리로 무처리에 비하여 효소 가수분해에 의한 당화 효율이 3.5배 증가한다.

후기

이논문은 2006년도 정부재원 (교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음 (KRF-2006-353-F00006)

References

- [1] Palsson, B.O., Fathi-Afshar, S., Rudd, D.F. and Lightfoot, E.N., 1981, "Biomass as a source of chemical feedstocks: an economic evaluation," Science Vol. 213, pp. 513-517
- [2] Pimentel, D., Moran, M. A., Fast, S., Weber, G., Bukantis, R., Balliett, L., Boveng, P., Cleveland, C., Hindman, S. and Young, M., 1981, "Biomass energy from crop and forest residues," Science Vol. 212, pp. 1110-1115
- [3] Bungay, H., 1982, "Biomass refining," Science Vol. 218, pp. 643-646
- [4] Dodds, D.R. and Gross, R.A., 2007, "Chemicals from biomass," Science Vol. 318, pp. 1250-1251
- [5] Goldemberg, J., 2007, "Ethanol for a sustainable energy future," Science Vol. 315, pp. 808-811
- [6] Lynd, L.R., Cushman, J.H., Nichols, R.J., and Wyman, C.E., 1991, "Fuel ethanol from cellulosic biomass," Science Vol.

251, pp. 1318-1323

- [7] Weisz, P. B. and Marshall, J.F., 1979, "High-grade fuels from biomass farming: potentials and constraints," *Science* Vol 206, pp. 24-29
- [8] Yemshanov, D. and McKenney, D., 2008, "Fast-growing poplar plantations as a bioenergy supply for Canada," *Biomass and Bioenergy* Vol. 32, pp. 185-197
- [9] Styles, D., and Jones, M.B., 2007, "Energy crops in Ireland: quantifying the potential life-cycle greenhouse gas reductions of energy-crop electricity," *Biomass and Bioenergy* Vol 31. pp.759-772
- [10] Lucia, L.A., Argyropoulos, D.S., Adamopoulos, L. and Gaspar, A.R. 2006, "Chemicals and energy from biomass," *Canadian Journal of Chemistry* Vol. 84, pp. 960-970
- [11] Lee, Y.C., 1996, "Carbohydrate analyses with high-performance anion-exchange chromatography," *J. Chromatogra. A.* Vol. 720, pp. 137-149