

## 유기용매 추출법에 위한 포플라의 전처리 및 당화

박정극 · 전영삼  
동국대학교 화학공학과

### Pretreatment and Saccharification of Poplar by Solvent Extraction.

Jun-Cheul Jung Kug Park and Young Sam Jeon

Dept. of Chem. Eng. Dongguk Univ.

#### ABSTRACT

The effect of the pretreatment by solvent extraction on the saccharification of poplar (*Populus euramericana*) was studied. The solvent system was Phenol / H<sub>2</sub>O (Uncatalyzed) and Phenol / H<sub>2</sub>O / HCl catalyst system. When the poplar was pretreated by uncatalyzed system, the best result of the saccharification was total of 43.9 g/l reducing sugar produced and 83.5% of carbohydrate conversion was obtained at 190 °C, 60 minutes. Total wood yield and the lignin removal were 46.3% and 98.2% respectively. The use of acid catalyst was unsuitable to increase the efficiency of saccharification.

#### 서 론

목질계 바이오매스는 풍부한 자원과 광범위한 분포 그리고 주기적인 재생이 그 장점으로, 고갈되어가는 석유 자원을 대신하기 위한 대체에너지 원료로서 수십년간 관심의 대상이 되어오고 있다(1). 그러나 목질계 바이오매스는 Lignin Cellulose 와 Hemicellulose 의 주변을 조직적으로 감싸고 있을뿐만 아니라 섬유소도 대부분 결정형 구조로서 각 분자들이 강한 결합을 이루고 있어 효소들의 침투가 극히 제한되어 있어 가수분해 속도와 수율이 낮다. 따라서 전처리 과정을 통해 링그닌의 함량과 섬유소의 결정성을 낮춤으로서 가수분해 속도를 증가시킬 수 있다(2). 전처리 방법으로는 물리적, 화학적 그리고 생물학적 방법이 있고(3), 본 연구에서는 화학적 방법적 유기용매 추출법에 의한 전처리 및 당화에 대하여 연구하였다.

유기용매 추출법은 유기용매를 사용하여 Biomass로부터 리그닌을 추출하는 방법으로서, 역사적으로 볼때 전통적으로 내려오던 Pulping-process(Kraft 또는 Sul-

fite Pulping Process)의 대체공정으로서 1930년대 말경에 최초로 개발이 시도되었고 1960년대 말부터 현재까지 계속적으로 연구되어 왔다. 특히, 1970년대 중반부터는 세계적인 석유가격의 영향으로 인하여 대체용 Pulping process로서 뿐만아니라, 전처리된 Pulp (Carbohydrate fraction, 주로 Cellulose)를 효소 가수분해를 이용해 당화시키고 또 생산된 당을 알콜 발효를 통하여 연료용에 탄올로 전환시키는 Biomass Conversion Process의 중요한 첫공정으로서 연구가 진행되어 왔다.

유기용매 전처리 공정은 주로 반응온도 100-200°C, 용액부피와 Biomass의 중량비가 4 : 1~20 : 1, 30~70% 유기용매 농도에서 반응시간 0.5~0.6시간 정도로 수행되었다. 유기용매로서는 주로 알콜류와 아민류등이 사용되었고 촉매로서는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl, NaOH 등이 사용되었다(4). Aromatic Alcohol 류가 Aliphatic Alcohol 류보다 전처리 효과가 컸으며 Aliphatic Alcohol 중에는 Butanol이, Aromatic Alcohol 류에서는 Phenol이 가장 효율적이었다(5). 본 연구는 광범위한 유기용매 추출법에 의한 Biomass의 전처리 자료들을 이용하여 가장 효율적인 전처리 조건을 찾는것이 목적이다. 따라서 본 연

구를 진행하는데 있어 중요한 인자들은 1) 유기용매의 종류와 농도 2) 전처리 반응온도와 시간 3) 산, 알칼리 촉매의 종류와 농도 4) 목분과 용매의 비율 5) 효소의 활성도 및 농도 6) 가수분해 온도 및 시간 7) 전처리 목분과 효소의 농도비 등이다.

다양한 유기용매를 사용하여 가장 적합한 몇가지를 선정해야되나 효율적인 실험진행을 위하여 몇가지 좋은 용매로서의 조건을 고려하여 Phenol / Water Solvent System 을 1차로 선정하였다. 그 이유로서는 Phenol 이 다른 용매에 비하여 상대적으로 리그닌 추출효율이 높고(6) 전처리 반응후 Waste Liguor 가 유기용매층( Phenol 층) 과 수층( Water Phase )으로 분리가 되어 리그닌과 Sugar 가 쉽게 분리될 수 있다. 또한 Schweers (7)가 보고하였듯이 Phenol 을 Phenol lignin 으로 부터 회수할 수 있다면 Pulping lignin 은 연료뿐만 아니라 hydrocracking 을 통하여 자체 공급용의 Phenol 을 만들 수 있고 또 상업적 가치가 있는 monoaromatics 들을 생산할 수 있다는 보고가 있다(8). 또한 Phenol 로 전처리된 목분의 당화수율이 타용매에 비해서 양호한 것으로 보고되어 있다(5).

이상의 몇가지 조건들을 고려하여 1차로 Phenol 을 유기용매로 선정하여 목질계 Biomass 의 전처리 및 당화에 대하여 연구하였다.

**재료 및 방법**

**목분시료**

사용한 목분시료는 경북대학교 농과대학 연습림에 있는 이태리 포플라 (*Populus euramericana*) 를 선택하여 Chip 을 만든후 이들을 Wiley's mill 로서 분쇄한뒤 40~80 mesh 크기의 목분을 제조하여 사용하였다. 제조한 시료의 함유율을 9%이었다.

**효소**

가수분해 실험에 사용한 Cellulase 효소는 *Trichoderma viride* 의 배양액을 농축한 산업용 효소인 Celluclast(Novo)였다. 이 효소의 soluble Protein 은 300 mg / ml였으며, filter paper activity 는 402 IU / ml, CMCase Activity 는 837 IU / ml 였고 specific filter paper activity 는 1.33 IU / ml 였다.

**용매추출에 의한 전처리.**

건조목분 10 g, 35 ml 의 유기용매(70℃, Phenol )그리고 35 ml 의 증류수를 100 ml 부피의 Stainless Steel Bomb (직경 40 mm × 높이 205 mm)에 넣어 반응시킨다. 산촉매 (HCl)는 사용하는 유기용매 부피의 0.1%(v

/v)를 첨가하였다. 전처리 반응온도는 170~200℃의 범위에서 10℃간격으로 하였고 반응시간은 30, 60, 90분이었다. 반응온도까지 도달하는데 걸리는 시간은 평균 17~23분 이었다. 반응 종료후 반응기를 꺼내 냉각수로 급냉시켜 반응을 중지시킨뒤 반응물을 유리여과기를 이용하여 물과 아세톤으로 세척해서 목분과 추출액으로 분리시킨다. 이때 세척액의 사용량은 900±10 ml 였다. 세척한 뒤 105±3℃의 건조기에서 12~16시간 건조시킨다. 추출액은 일정시간 방치한후 수상과 유기상으로 분리하여 보관하였다. 유기용매 추출 장치를 Fig. 1에 나타내었다.

**목분수율 (Wood Yield)**

전처리한 목분의 수율은 반응에 사용한 목분의 건조중량에 대한 전처리후 목분의 건조중량과의 비에서 구하였다.

**리그닌 분석**

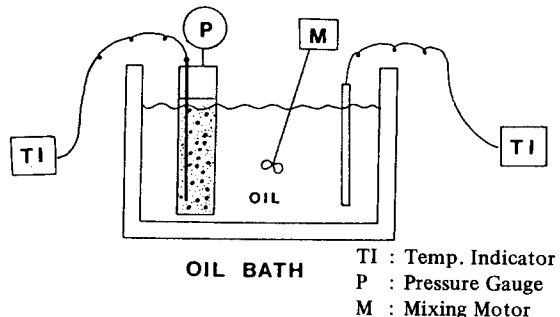
리그닌 함량은 Klasson Lignin 법(9)을 사용하였다.

**효소 가수분해**

전처리한 건조목분 5g 을 Na-Citrate Buffer(pH 4.8) 92 ml 가 들어있는 250 ml 삼각 플라스크에 넣는다. 그리고 3 ml 의 Celluclast 를 넣고 Air Shaking Incubator 에서 반응시킨다. 반응도중 일정시간 간격(0~72시간)으로 7 ml 씩 sampling 하여 원심분리 시킨뒤 상등액만 취하여 당분석을 한다. 가수분해 온도는 50℃, shaker 의 회전속도는 115 rpm 이었다.

**당분석 방법**

가수분해후 생성된 환원당 (Tatal Reducing Sugar )은 표준물질로 Glucose 를 사용하여 DNS 법(10)으로 측정하였다. 생성환원당중 Glucose 는 glucose analyzer ( YSI Model )로 측정하였다.



**Fig. 1. Solvent Extraction Equipment**

결과 및 고찰

목분의 전처리

이태리 포플라 (*Populus euramericana*) 를 무촉매 상태에서 Phenol에 의한 전처리와 산촉매(HCl)를 사용한 전처리후 목분수율과 리그닌 제거율에 대한 결과를 Fig. 2와 3에 도시하였다.

무촉매 전처리의 목분수율은 최고 71.5%(170°C, 30분)에서 최저 41.8%(200°C, 90분)까지 분포하였다. 산촉매 전처리의 경우는 무촉매시와 비교하면 평균 13.1±3.45%가 감소한 최고 54.4%(170°C, 30분)에서 최저 30.6%(200°C, 90분)의 결과를 나타내었다. 온도가 높아질수록, 또 반응이 길어질수록 목분수율은 낮아지는 경향을 보였다. 전처리 결과 리그닌 이외에도 Cellulose 와 Hemicellulose 가 동시에 분해되어 추출되는 것을 알 수 있다. 특히, 산촉매를 사용한 전처리에서는 일반적으로 전처리후 추출액의 pH가 무촉매시의 3.0~4.0에서 2.0~3.0사이로 감소하였다. 따라서 낮은 pH에서 탄수화물 부분도 상당량 산가수분해에 의해 분해된 결과로 판단된다.

리그닌 제거율은 무촉매 전처리의 경우 48.6%(170°C, 30분)에서 98.2%(190°C, 60분)까지 분포되었고, 190°C, 60분 이상의 조건에서 일반적으로 95%이상의 리그닌이 추출되는 높은 추출능력을 보였다. 산촉매의 사용시에는

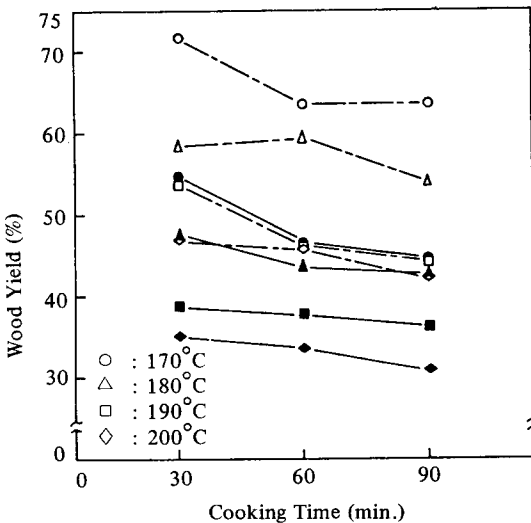


Fig. 2 % Wood Yield of Poplar Pretreated by Phenol/H<sub>2</sub>O Uncatalyzed (---) and Phenol/H<sub>2</sub>O/HCl Catalyst (—) Solvent System.

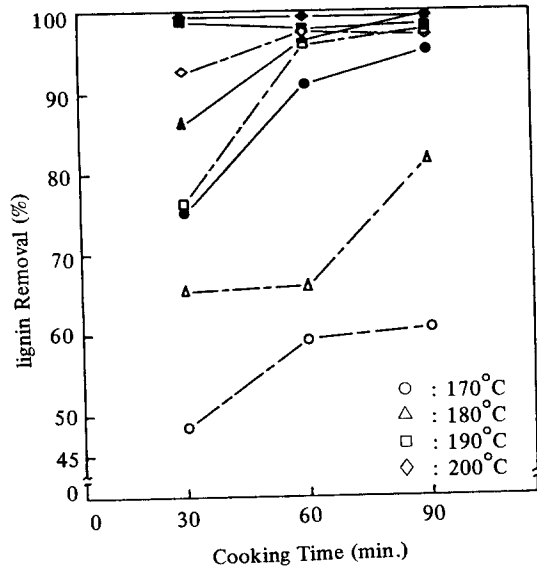


Fig. 3. % Lignin Removal after the Pretreatment of Poplar by Phenol/H<sub>2</sub>O Uncatalyzed (---) and Phenol/H<sub>2</sub>O/HCl Catalyst (—) Solvent System.

180°C, 60분 이상에서 리그닌함량은 거의 1% 미만으로 98% 이상의 리그닌이 추출되어 무촉매시보다 평균 16.53±13.15%의 높은 리그닌 제거율을 나타내었다.

효소 가수분해

전처리후 건조목분의 72시간 효소 가수분해 결과 전체 환원당의 생성량 및 전화율(당화율)을 Table 1, 2에 나타내었다. 그리고 Fig. 4에는 각 Solvent System에서 최고의 결과를 보인것을 도시하였다.

무촉매 상태에서 포플라를 전처리한 목분의 결과는 일반적으로 전처리 반응 온도와 시간이 증가함에 따라 리그닌 추출량이 증가하여 전체 환원당의 생성량과 전화율이 높아가는 경향을 나타내었다. 190°C, 60분에서 전처리한 목분이 최고의 환원당 생성(43.9g/l)을 나타내었고 이때의 전화율은 83.4%이었다. 이중 glucose analyzer로 분석한 결과 glucose의 농도는 36.2g/l로 전체 환원당의 82.5%를 차지하였다. 190°C, 60분이상의 전처리 조건에서는 오히려 당화율이 감소되었는데 이로 미루어볼때 리그닌 제거율 뿐만아니라 섬유질의 구조가 전처리 효과에 중요한 인자가 된다는것을 알 수 있다. 즉, 200°C 이상에서는 리그닌이 거의 97%가 제거되었으나 당화율은 오히려 190°C, 60분때 보다 훨씬 감소됨을 볼 수 있다.

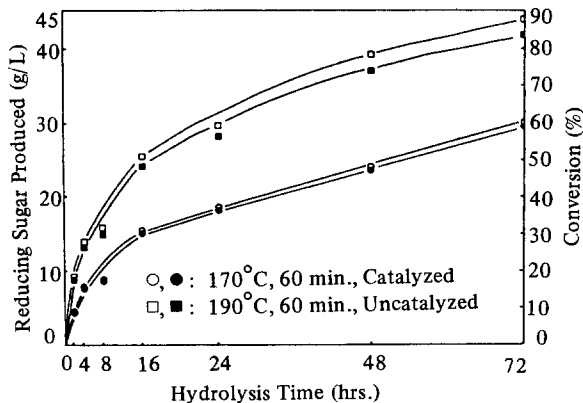
**Table 1. Total Reducing Sugar and % Conversion during 72 hrs. of Enzymatic Hydrolysis of Poplar Pretreated by Phenol/H<sub>2</sub>O Solvent System.**

Cooking Time Temperature	30 min.		60 min.		90 min.	
	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)
170°C	20.3	41.9	33.1	64.0	32.0	60.6
180°C	30.5	58.6	34.0	63.0	34.5	64.2
190°C	32.8	62.1	43.9	83.4	40.2	75.1
200°C	40.2	73.8	40.2	73.3	34.8	64.2

$$* \% \text{ Conversion} = \frac{\text{Total Reducing Sugar (g/L)}}{50 \times \% \text{ Composition of Carbohydrates} \times 1.1} \times 100$$

**Table 2. Total Reducing Sugar and % Conversion during 72 hrs. of Enzymatic Hydrolysis of Poplar Pretreated by Phenol/H<sub>2</sub>O/HCl Catalyst Solvent System**

Cooking Time Temperature	30 min.		60 min.		90 min.	
	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)	Reducing Sugar (g/L)	Conversion (%)
170°C	26.4	54.2	30.2	59.1	27.8	53.7
180°C	25.0	49.7	26.4	50.3	27.3	51.3
190°C	25.1	47.0	23.5	44.3	28.5	53.3
200°C	23.7	44.3	24.5	45.6	27.5	51.7



**Fig. 4. Total Reducing Sugar (○, □) and % Conversion (●, ■) Profiles during 72 hrs. of Enzymatic Hydrolysis of Poplar Pretreated by Phenol/H<sub>2</sub>O Catalyzed and Uncatalyzed System.**

산촉매를 사용했을때에는 무촉매시와는 달리 반응온도가 증가할 수 있도록 당화율이 감소하였다. 170°C, 60분에서 전처리된 목분이 가장 높은 환원당 생성(30.16g/l)을 보였고, 이때의 당화율은 59.1%였다. 무촉매시와 비교하여, 같은 리그닌제거율(거의 100%)이나 산촉매하에서 오히려 훨씬 낮은 당화율을 나타내었으므로 보아 Phenol / H<sub>2</sub>O 용액에서 부적합하다고 판단된다.

**요 약**

Phenol / H<sub>2</sub>O 를 유기용매로 사용하여 이태리 포플라 (*Populus euramericana*) 를 무촉매와 산촉매 (HCl)하에서 170, 180, 190, 200°C에서 각각 30, 60, 90분간 전처리하였다. 각 조건에서의 목분수율, 리그닌 제거율, 그리고 효소 가수분해에 의한 당화율을 비교 검토하였다. 무촉매하에서의 전처리 결과, 전체 목분수율은 71.5 (170°C, 30분)에서 41.8%(200°C, 90분)의 분포를 보였고, 190°C, 60분 조건에서 가장 높은 전처리 효과를 나타

내있는 바 이페의 리그닌 제거율은 98.2%로서 거의 대부분이 추출되었으며 72시간 효소 가수분해 결과 생성된 전체 환원당 농도는 43.9 g/l였고 전화율(당화율)은 83.4%였다. 이때 전체 환원당중 glucose의 농도는 36.2 g/l로 82.5%를 차지하였다. 산촉매(HCl)를 사용하였을때는 무촉매에 비해 13.1±3.45%의 낮은 목분수율을 보였고 16.53±13.15%의 높은 리그닌 제거율을 나타내었다. 가장 높은 당화율은 170°C, 60분에서 전처리한 것으로 59.1%였다.

따라서 산촉매하에서의 당화율이 무촉매의 경우보다 훨씬 낮아 산촉매가 부적합함을 보였다.

### 감 사

본 연구는 동력자원부 대체에너지 기술개발 사업비 지원에 의한 "바이오매스 자원의 전처리-당화 신품종의 개발"사업이며 지원에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. N. Kosaric, A. Wieczorek, G. P. Cosentino etc. (1983), *Biotechnology*, (H.-J. Rehm and G. Reed eds), Vol. 3, 293, Verlag Chemie, Weinheim.
2. L. T. Fan, M. M. Gharpuray, and Y.-H. Lee, (1987), *Biotechnology Monographs*, (S. Aiba, L. T. Fan, A. Fiechter, J. Klein, K. Schügerl eds), Vol. 3, 5, Springer-Verlag, Berlin.
3. *ibid.*, 54
4. 박정국, 전영삼. (1989. 2), "바이오매스 자원의 전처리-당화 신품종 개발", 동력자원부 중간 보고서.
5. Y. H. Lee, C. W. Robinson and M. Moo-Young, (1987), *Biotech. and Bioeng.*, 29, 572-581.
6. G. C. April, M. M. Kamal, J. A. Reddy, G. H. Bowers and S. M. Hasen, (1979), *TAPPI*, 62(5), 83-85.
7. W. H. M. Schweers, (Aug. 1974), *CHEMTECH*, 490-493.
8. B. R. Allen, M. J. Cousin and G. E. Pierce, (1980), "Pretreatment methods for the degradation of Lignin," NSF final report, Battelle Columbus Lab.
9. 이종윤 외 2인, (1986), "목재화학", 서울, P. 372, 선진문화사.
10. J. B. Sumner, (1921), *J. Biol. Chem.*, 47, 5.

(Received November 24, 1989)