

## 호주산 갈탄의 미생물에 의한 가용화 연구 : 전처리 방법이 가용화에 미치는 영향

신 현 재 · 양 지 원

한국과학기술원 화학공학과

### Biosolubilization of Australian lignite : effect of pretreatment method on biosolubilization

Hyun Jae Shin, Ji Won Yang

Department of Chemical Engineering, KAIST

#### ABSTRACT

The solubilizations of Australian lignite by the fungus *Poria cocos*, *Trichodermareesei*, *Candida tropicalis*, and *niger* were investigated. Three different types of chemical pretreatment methods were used for increasing biosolubility of lignite. Nitric acid and hydrogen peroxide were proven to be proper chemical pretreatment materials of Australian lignite. *Poria cocos* showed much better solubilization ability than other strains. Interpretation of the nature of coal solubilization by *Poria cocos* was based primarily on infrared, ultraviolet and nuclear magnetic resonance spectrum analyses.

#### 서 론

경제적인 에너지원인 석탄을 효율적으로 이용하기 위한 방법으로서 석탄의 가스화, 액화 및 석탄 연소 시의 황산화물을 제거하기 위한 탈황공정에 관한 연구가 진행되고 있다(1). 그러나 기존의 공정들은 비경제적인 요인들을 내포하고 있는데 그 중에서도 석탄액화 공정은 고온, 고압 하에서 이루어지며 다량의 용매를 사용하므로 이러한 반응을 진행하기 위하여 부수적인 고가의 장비가 필요하다(1). 최근 이러한 기존의 공정에 비하여 훨씬 경제적인, 생물공정에 의한 액화공정의 연구가 주목받고 있다. 일반적으로 미생물에 의한 액화공정은 상온, 상압 반응이며 부수적인 장비가 간단하여 경제적인 측면에서 실용화의 가능성이 크다(1). 미생물에 의한 석탄의 액화 혹은 가용화는 1982년 Cohen과 Gabriele(2)에 의하여 처음으로 보고 되었고, 그 후 여러 연구자들에 의하여 다양한 bacteria와 fungi에 의한 석탄액화 연구가 진행되었다(3, 4, 5). 석탄 중에서 탄도가 낮고 산화수가 높은 것들은 lignocellulose 계통의 물질과 화학 구조상의 유사성이 있으므로 lignin을

분해하는 미생물이 이러한 저급탄의 액화에 가담할 수 있는 것으로 추측된다(4). 그러나 최근의 연구에 의하면 저급탄 뿐만 아니라 탄도가 높은 역청탄도 적절한 전처리를 거치면 미생물에 의하여 액화될 수 있음이 보고되었다(5). 석탄의 액화는 초기에는 표면배양이 주된 방법이였으나 대량의 석탄액화 물질을 생산하기 위하여 현탁배양으로 연구의 방향이 바뀌어가고 있다(6). 그러나 석탄액화 물질에 대한 화학적 조성은 아직 확실히 밝혀지지 않았으며 이들 반응에 관여하는 효소의 기작 역시 규명되어 있지 않다.

석탄의 액화를 촉진시키는 방법으로 많이 사용되는 방법은 산화제를 사용하는 방법인데 대표적인 물질로는 질산과 과산화수소수가 있다(7). 대부분의 석탄은 공극이 매우 적고 미생물이 대사하기 위한 관능기가 한정되어 있으므로 화학적 전처리를 하지 않았을 경우에 액화 반응이 일어나기 어렵다(8). 그러므로 적절한 전처리 방법은 미생물이 석탄을 처리하기 전에 반드시 선행되어야 한다. 그러나 산화성 전처리제의 사용농도와 처리시간은 연구자들에 따라 많은 차이를 보이며 아직 일정한 규칙성이 확립되어

있지는 않다.

본 연구에서는 석탄을 대사물질로 이용하는 것으로 알려진 여러 미생물 중에서 4가지 미생물을 택하여 갈탄의 액화능을 시험하였으며 석탄액화 능력이 우수한 균주를 표면배양을 통하여 선별하였다. 실험에 사용한 석탄은 국내에서 사용중인 호주산 갈탄과, 다른 연구결과와의 비교를 위하여 Texas lignite를 사용하였다. 가장 적절한 화학적 전처리 방법을 알아내기 위하여 3가지의 산화제를 사용하였으며 이 실험을 통하여 8N 질산이 가장 우수한 전처리제임을 밝혀내었다. 또한 여러가지 분광법을 이용하여 석탄액화 물질의 화학적 구조를 예측하였다.

### 재료 및 방법

실험에 사용된 시료석탄은 (주)삼천리에서 공급받은 호주산 삼천리-275 갈탄을 사용하였으며 석탄가용화 실험에는 삼천리-275와 더불어 Penn State Coal Sample Bank(Energy and Fuels Research Center, Penn State Univ., 205 Research Building E, University Park, PA 16802)에서 구입한 Texas lignite PSOC-1442를 사용하였다. 이들 석탄의 성분조성을 Table 1에 나타내었다. 시험에 사용한 갈탄은 hammer crusher로 일차 분쇄한 후 ball mill로 12시간 동안 분쇄한 다음 표준 sieve를 사용하여 입도 분포대로 분류하여 사용하였다(9).

석탄의 가용화 실험에 사용된 미생물은 유전공학센터에서 분양받은 4종의 미생물을 사용하였다. 분양받은 미생물은 모두 fungus 계통의 균들로 *Trichoderma reesei* ATCC 24449, *Poria cocos* KCTC 6074, *Candida tropicalis* ATCC 20336, *Aspergillus*

*niger* KCTC 1374이다. 이들의 생장온도는 25℃이며 생장배지는 potato-dextrose agar 배지로서 Difco사에서 판매하는 제품을 직접 사용하였다.

미생물에 의한 석탄의 가용화 능력을 알아보기 위하여 세가지의 다른 방법으로 전처리를 하였다. 구입한 삼천리-275 갈탄과 Texas lignite를 70 mesh로 분쇄한 후 각각을 3배의 전처리 용액과 혼합하여 hood내에서 18℃, 55시간 동안 정치하였다. 실험에 사용한 전처리 용액은 30% 과산화수소수용액과 8N 질산 용액 그리고 0.2M ammonium persulfate이다. 이렇게 정치시킨 석탄 용액을 진공펌프를 이용하여 하층액이 맑은 액으로 변할때까지 2-3회 3차 증류수를 사용하여 여과하였다. 여과된 석탄은 새로운 비이커에 옮긴 뒤 100℃ 오븐에서 24시간 baking하였다(10). 이렇게 처리된 석탄을 전처리가 끝난 석탄이라 간주하였으며 실험에 사용하기 전까지 desiccator에 보관하였다.

분양받은 미생물은 25℃, 80% 습도의 조건에서 10일간 정치 배양하였다. Petri-dish 상에서 모든 공간을 다 덮은 상태를 석탄의 접종시기로 간주하였으며, 석탄 분산후 1-2일 경과한 다음 석탄의 가용화 능력을 육안으로 식별하였다.

시료석탄과 석탄가용화액의 화학적구조는 적외선 흡광도를 이용하여 나타내었다(BOMEM, Michelson series). 각각의 시료는 1차 여과한 후 동결건조하여 알갱이로 만든 다음 KBr법에 의하여 원형의 시편을 제조하였다(11). Scanning 횟수는 20회 이었으며 resolution은 4.0cm<sup>-1</sup>이었다. 한편 석탄가용화액의 내부구조를 알기 위하여 중수를 용매로하여 NMR 분광도를 측정하였다(Bruker, 500 MHz NMR system). Scanning 시간은 4시간 이었으며 물에 의한 peak의 감소를 억제하기 위하여 water presaturation programming을 하여 측정하였다(12). 또한 액화한 석탄의 특성을 비교하기 위하여 UV-spectrophotometer를 사용하여 전 파장 영역에서 흡광도를 측정하였다(Hewlett-Packard, HP 8452A Diode Array Spectrophotometer)(13).

### 결과 및 고찰

#### 가용화 능력의 검증

석탄의 전처리는 질산을 비롯한 3가지의 다른 산화제를 사용하였다. 갈탄을 가용화하는 균주의 경우에는 12시간내에 산포한 석탄의 50% 이상을 가용화하였으며 하루가 지나면 산포한 석탄의 80% 이상을

Table 1. Composition of lignite

Proximate Analysis	<sup>a</sup> Australian lignite	<sup>b</sup> Texas lignite
% Moisture	8.93	32.6
% Ash	1.12	7.60
% Volatile	46	45.42
% Fixed carbon	43.94	14.38
% Total sulfur	0.24	0.53
Calorific value (Gross, Kcal/Kg)	6170	6314

<sup>a</sup>: From Korean Standard Method KSE 3750-82, 3706-82, 3707-82.

<sup>b</sup>: From Penn. State Coal Data Base results.

가용화 하였다. 하루가 지난 후에 이들 균주의 가용화 능력을 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와같이 호주산 갈탄의 경우는 8N 질산으로 처리한 경우가 가장 높은 가용화 능력을 나타내었으며, Texas lignite의 경우에는 30% 과산화수소수로 처리한 석탄이 가장 높은 가용화 능력을 나타내었다. 이것은 전처리 시에 전처리 용액과의 높은 반응성에 기인하는 것으로 추정되는데, 전처리 할 때에 호주산 갈탄의 경우는 질산과 아주 격렬히 반응하였으며 반면에 Texas lignite의 경우는 과산화수소수 용액과의 높은 반응성을 나타내었다. 이들 석탄의 반응성이 상이한 이유는 석탄의 구성성분중 탄소의 함유량 및 수분 함량 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다. 석탄의 가용화는 Texas lignite 보다 호주산 갈탄이 훨씬 우수한 능력을 나타내는데, 이것은 호주산 갈탄이 Texas lignite 보다 석탄의 구성 성분에 있어서 구성 탄소의 사슬이 짧기 때문인 것으로 추정된다. 그러나 실제로 함유된 고정 탄소의 함량은 호주산 갈탄이 매우 적다. 그러므로 미국산 갈탄에 비하여 호주산 갈탄이 저급 석탄의 산업적 이용에 아주 유용한 재료라고 사료된다. 또한 이번 실험으로 부터 밝혀진 것은 대상이 되는 석탄에 따라서 전처리 방법이 달라져야 한다는 것이다. 일반적으로

알려진 전처리 방법 중에서 질산이 우수한 산화력을 나타내기는 하지만 항상 그렇지 않다는 것이 밝혀졌다. 한편 육안으로 관찰되는 석탄의 액화현상은, 배양후 6시간이 지나면 석탄입자 주위에 투명한 갈색 액체가 생성되며 하루가 지나면 석탄 자체가 액화하면서 흑색액체를 생성한다. 이들 흑색액체는 그 후 계속적인 액화 현상을 보이며 10일이 지나면 agar plate 상에서 액체가 하나의 커다란 균체를 이루는 것을 확인할 수 있었다. 액화능이 가장 우수한 균주인 *Poria cocos* KCTC 6074의 경우에 결과를 확인할 수 있는 사진을 Fig. 1에 실었다. 생성된 흑색 액체는 각종의 분석기기를 사용하여 분석하였다.

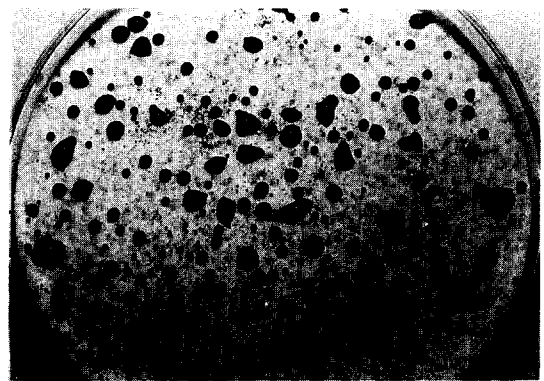


Fig. 1. Particles of Australian lignite undergoing solubilization on a fungal mat of *Poria cocos* KCTC 6074.

Table 2. Effect of oxidative pretreatment on biosolubilization

Australian lignite				
	<i>Trichoderma reesei</i>	<i>Poria cocos</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
No	-	+	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	++	-	+
HNO <sub>3</sub>	+	+++	-	++
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	-	-	-	-

Texas lignite				
	<i>Trichoderma reesei</i>	<i>Poria cocos</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
No	-	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	+++	-	++
HNO <sub>3</sub>	-	+	-	+
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	-	-	-	-

Symbols : - no solubilization  
 + good solubilization  
 ++ very good solubilization  
 +++ excellent solubilization

석탄가용화액의 분석

화학적으로 처리한 석탄중에서 미생물에 의하여 가용화 능력이 우수한 호주산 삼천리-275 석탄을, 질산으로 처리한 후 *Poria cocos* KCTC 6074를 배양한 agar 배지에 2일간 배양하여 석탄액화 물질을 분리하였다. 액화 물질을 1N 염산으로 처리하여 불용화 침전을 얻은 후 3회 세척하여 동결 건조하였다. 이렇게 얻어진 침전물을 진공오븐에서 하루간 방치한 후 압착기로 IR 펠렛을 제조하였다.

Fig. 2에서 Fig. 7까지 보면 화학적 전처리를 하지 않은 석탄과 전처리를 거친 석탄의 IR spectrum이 많은 차이가 있음을 알 수 있다. Wavenumber 700 cm<sup>-1</sup> 부근의 peak는 amide 계열의 물질을 나타내는데(11), raw coal의 경우는 이 peak가 현저한데 비하여 처리 단계를 거칠수록 그 크기가 감소한다. 이 까닭은 석탄이 계속적인 산화를 거치는 것으로 풀이되며 석탄액화 물질은 더욱 더 산화된 형태라고 추

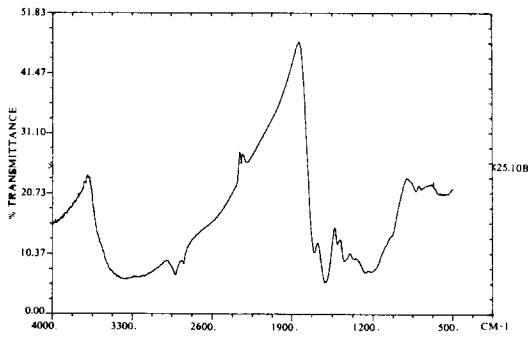


Fig. 2. FTIR spectrum of raw Australian lignite.

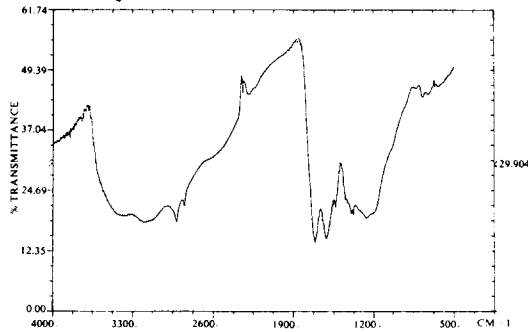


Fig. 3. FTIR spectrum of Australian lignite pretreated with 8 N nitric acid at 25°C for 60 h.

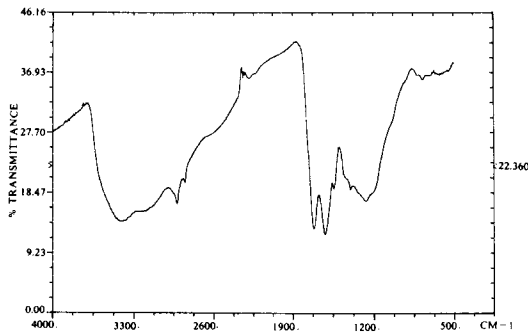


Fig. 4. FTIR spectrum of solubilized liquid from Australian lignite.

측할 수 있다. Wavenumber  $1100\text{-}1300\text{cm}^{-1}$  부근은 ester의 stretching peak인데 석탄이 가용화되면서 그 흡광도가 줄어들음을 알 수 있으며, Wavenumber  $1400\text{cm}^{-1}$  부근의  $\text{C}=\text{O}/\text{NH}_2$  peak도 역시 줄어들음을 알 수 있다. Wavenumber  $1600\text{-}1700\text{cm}^{-1}$  부근의 ester 혹은 ketone peak가 석탄액화 물질에서 늘어나는 것은 석탄의 계속적인 산화에 기인하는 것으로 사료된다. 또한 Wavenumber  $1900\text{-}2400\text{cm}^{-1}$  부근의 방향족 고리 peak는 석탄액화 물질이 되면

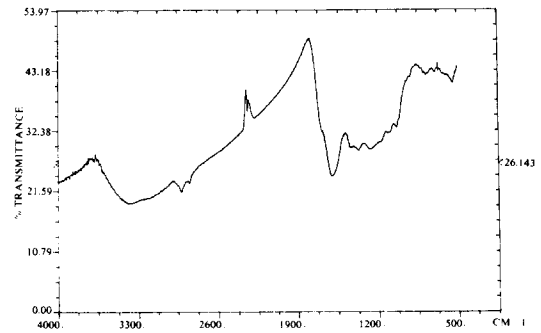


Fig. 5. FTIR spectrum of raw Texas lignite PSOC-1442.

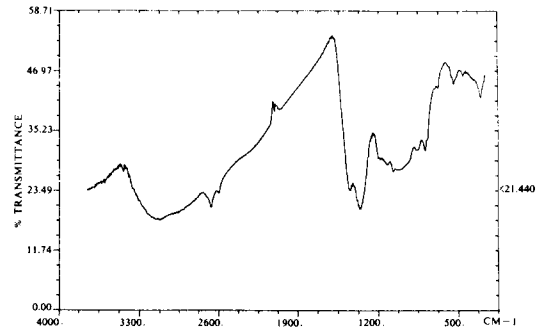


Fig. 6. FTIR spectrum of Texas lignite PSOC-1442 pretreated with 30% hydrogen peroxide at 25°C for 60 h.

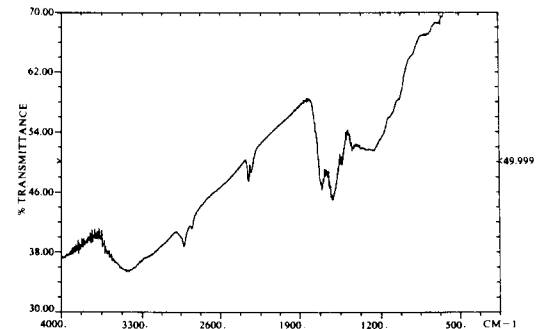


Fig. 7. FTIR spectrum of solubilized liquid from Texas lignite PSOC-1442.

서 그 크기가 현저히 감소되며, Texas lignite의 석탄액화 물질에서 발견되는 Wavenumber  $2200\text{cm}^{-1}$ 에서의 급격한 흡수는 공기중의  $\text{CO}_2$ 에 의한 것이다 (11). 한편 Wavenumber  $2800\text{cm}^{-1}$  부근의 지방족 사슬의 peak가 증가하는 까닭은 산화에 의하여 사슬구조가 일부 파괴된 때문으로 추정된다. Wavenumber  $700\text{cm}^{-1}$  부근의 hydroxyl group과 carboxylate peak는, 삼천리 갈탄의 경우에 가용화되면서

peak가 두가지로 분리되는 반면에 Texas lignite의 경우에는 그렇지 않게 나타나는데 이것은 석탄의 전처리 과정의 차이에서 비롯된 것으로 추측된다. Fig 8에서 보면 최종적으로 가용화한 상태의 peak는 두 석탄 모두 거의 유사한 형태의 peak가 얻어졌으며 이것으로 미루어 보아 동일한 균주를 사용할 경우에는 석탄의 가용화 최종산물은 유사하다고 말할 수 있다. 석탄 가용화액의 UV-scanning 결과는 240-400nm에 걸쳐서 아주 넓은 영역의 흡수를 보이며 두가지 석탄의 경우 모두 유사한 경향을 나타내는데, 이 결과는 IR spectrum의 peak 해석 결과와 일치한다. 그러나 액화 물질의 특성 peak인 450nm의 흡광도 값은 삼천리 275탄의 경우가 Texas lignite의 경우보다 약간 높게 나타났다(Fig. 9). 이것으로 미루어보아 호주산 갈탄이 가용화의 목적으로는 외국 갈탄에 비하여 성능이 우수한 것으로 사료된다. 삼천리 275 갈탄의 <sup>1</sup>H NMR spectrum을 살펴보면, 8.41 ppm 부근에서 aromatic proton의 peak가 높으며 1.5-2 ppm 부근의 carboxylic group의 peak가 매우 높게 나타나는데, 이것은 석탄의 계속적인 가수분해와 산화에 기인하는 것으로 풀이된다(Fig. 10). 이 spectrum을 살펴보면, 방향족의 수소는 8.14 ppm에서 특성 peak가 나타나며 peak의 적분

값으로부터 계산된 이 peak의 강도(intensity)는 24%이다. Carboxyl 산소에 붙은 수소의 특성 peak는 3.3 ppm에서 나타나며 강도는 13%이고, Ketone에 연결된 수소의 특성 peak는 2.2 ppm이며 이때의 강도는 31%로 나타났다. 한편 지방족 사슬의 수소 peak는 1.2 ppm에서 나타나며 강도는 32%로 가장 높은 강도를 나타내었다. 이것은 앞서 가용화 실험에서 예측한 바와 같이 호주산 갈탄이 짧은 탄소 사슬을 다량 함유하고 있음을 반증한다(11).

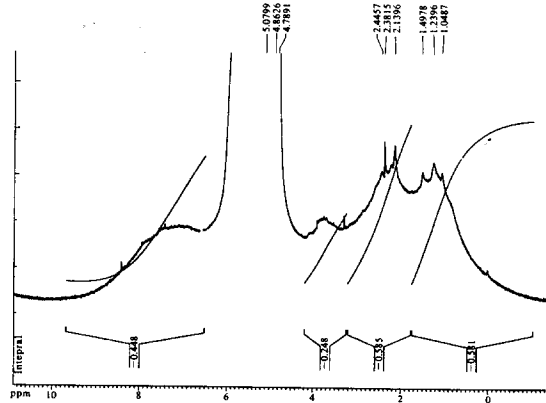


Fig. 10. NMR spectrum of liquefied Australian lignite in D<sub>2</sub>O.

요 약

곰팡이의 일종인 *Poria cocos*, *Trichoderma reesei*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger*를 이용하여 호주산 갈탄의 액화를 연구하였다. 갈탄을 전처리하는 방법을 달리하여 전처리가 갈탄의 액화에 미치는 영향에 관하여 알아보았으며, 질산과 과산화수소가 호주산 갈탄을 액화하는데 우수한 전처리제라는 사실을 확인하였다. 사용한 여러 균주 가운데 *Poria cocos*가 가장 뛰어난 액화능을 나타내었으며, 석탄 액화 물질의 구조를 Infrared, Nuclear magnetic resonance, Ultraviolet 분광법을 사용하여 예측하였다.

감 사

본 연구는 동력자원부에서 시행한 대체에너지기술 개발사업(911E302-331FP1)의 일환으로 연구되었으며, 연구비 지원에 감사합니다.

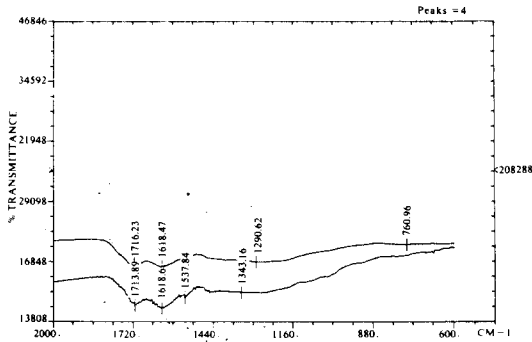


Fig. 8. FTIR spectrum of solubilized liquid from Texas lignite PSOC-1442(lower curve) and solubilized liquid from Australian lignite (upper curve).

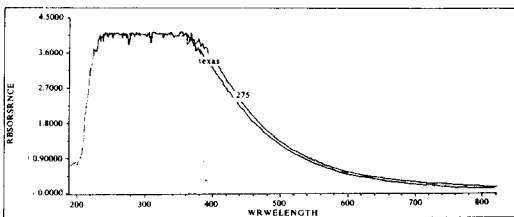


Fig. 9. UV spectrum of liquefied lignite coals.

## 참 고 문 헌

1. J. A. Campbell, Fredrickson, J. K., Stewart, D. L., Pyne, J. W., Wilson, B. W., Bean, R. M., and Cohen, M. S., (1987) *Abstracts of the ACS Meeting*, New Orleans, Aug. 30-Sept. 4.
2. M. S. Cohen, and Gabriele, P. D., (1982) *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 23.
3. K. E. Chung, and Goldberg, I. B., (1988) *Proceedings of the EPRI 11th Annual Conference on Clean Liquid and Solid Fuels*, Electric Power Research Institute, Palo Alto, Calif., **2**, 83.
4. G. J. Olson, and Brinkman, F. E., (1986) *Fuel*, **65**, 1638.
5. G. J. Crawford, (1978) *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**(6), 1941.
6. C. M. Detz, and Barvinchak, G., (1979) *Min. Congr. J.*, **65**, 75.
7. R. M. Fakoussa, (1981) Ph. D. Thesis, Freidrich-Wilhelm Universität, Bonn.
8. J. D. Isbister, and Kobylinski, E. A., (1985) *Processing and Utilization of High Sulfur Coals* (Y. A. Attia, ed.), Elsevier, N. Y.
9. J. A. Korbinger, (1964) *Proc. W. Va Acad. Sci.*, **36**, 26.
10. C. D. Scott, Strandberg, G. W., and Lewis, S. N., (1986) *Biotechnol. prog.*, **2**, 131.
11. J. W. Pyne, Stewart, D. L., Fredrickson, J., and Wilson, B. W., (1987) *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 2844.
12. B. W. Wilson, R. M. Bean, J. A. Franz, B. L. Thomas, M. S. Cohen, Aronson, H., and Gray, E. T., Jr., (1987) *Energy Fuels*, **1**, 80.
13. G. W. Strandberg, and S. N. Lewis, (1986) *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **17**, 153.