

산 촉매 가수분해에 의한 자이란 분해속도 연구*1

서 영 준*2 · 이 홍 주*3 · 이 재 원*2†

Kinetic Study on the Acid-catalyzed Hydrolysis of Xylan

Young-Jun Seo*2 · Hong-Joo Lee*3 · Jae-Won Lee*2†

요 약

본 연구는 산 촉매에 의한 자이란 분해속도를 분석하는 것으로 120°C에서 60분 동안 가수분해를 수행하여 자이란 분해속도를 조사하였다. 산 촉매로는 황산, 옥살산, 말레산을 사용하였다. 자이란 분해에 관여하는 분해 속도상수(k_I)는 산 농도에 비례하여 증가하였으며 이것은 산 농도가 증가할수록 자이란 가수분해가 빠르게 진행 된다는 것을 의미한다. 황산, 옥살산, 말레산 중에서 자이란에서 자이로스로 분해되는 속도는 황산을 촉매로 사용하였을 때 가장 높았다. 하지만 수소농도인 pH를 기준으로 하였을 때, 즉 같은 pH 조건에서 가수분해를 수행 하였을 때 자이란에서 자이로스로 분해되는 속도는 옥살산, 말레산과 같은 dicarboxylic acid 촉매에서 황산을 사용하였을 때 보다 높은 분해속도상수를 나타냈다.

ABSTRACT

In this study, we investigated the kinetics of acid-catalyzed hydrolysis of xylan over a 60 min at 120°C. Sulfuric, oxalic and maleic acids were used as acid catalyst for hydrolysis. The calculated degradation rate constants (k_I) showed a correlation with the acid concentration, meaning that the stronger the acid, the higher the xylan degradation rate. Among sulfuric, oxalic and maleic acid catalyzed hydrolysis, the xylan degradation rate to xylose was highest with sulfuric acid. At equivalent solution pH, acid catalyzed hydrolysis was proportional to H^+ concentration. The k_I of dicarboxylic acid such as oxalic and maleic acid was higher than that of sulfuric acid at same pH values during hydrolysis.

Keywords: kinetic study, acid-catalyzed hydrolysis, xylan, dicarboxylic acid

*1 접수 2012년 9월 13일, 채택 2012년 11월 16일

*2 전남대학교 농업생명과학대학 산림자원학부, Department of Forest Products and Technology (BK21 Program), Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea

*3 전남대학교 농업생명과학대학 바이오에너지공학과, Department of Bioenergy Science and Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea

† 교신저자(corresponding author) : 이재원(e-mail: ljw43376@chonnam.ac.kr)

1. 서 론

지금까지 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스로 미국에서는 옥수수, 브라질에서는 사탕수수에 의존하고 있다. 당질 및 전분계 바이오매스를 제외한 셀룰로오스계 바이오매스를 이용한 바이오에탄올 생산은 최근에 와서 그 관심이 모아지고 있다(Soderstrom *et al.*, 2003). 그 이유는 전건 중량의 상당한 부분을 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스가 차지하고 있어 지구상에서 가장 풍부한 탄수화물을 포함하고 있는 자원이기 때문이다(Sun and Cheng, 2002; Wingre *et al.*, 2008). 셀룰로오스계 바이오매스로 얻을 수 있는 발효가능한 당류는 셀룰로오스로부터 글루코오스, 헤미셀룰로오스로부터 자일로스, 만노오스, 갈락토오스, 아라비노오스가 대표적이다. 셀룰로오스계 바이오매스를 구성하는 섬유소는 옥수수, 사탕수수와는 달리 대부분의 글루코오스와 다양한 이종의 당으로 구성되어 있어 에탄올뿐만 아니라 유용 가능한 고부가가치 산물을 만들 수 있는 장점을 가지고 있다. 옥수수와 같은 전분계 탄수화물은 셀룰로오스계에 비해 에탄올로 전환이 용이하지만 식량자원의 측면에서 그들의 이용을 줄이고 있는 실정이다.

전분계와는 다르게 셀룰로오스계 바이오매스를 이용하여 바이오에탄올을 생산하기 위해서는 전처리 과정이 필수적으로 요구된다. 셀룰로오스계 바이오매스는 쉽게 분해할 수 없는 결정성 영역을 포함하며 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌과의 유기적인 연결로 이루어져 있어 발효가능한 당 생산을 위해서는 바이오매스에 적합한 전처리가 요구된다. 셀룰로오스계 바이오매스를 이용한 바이오에탄올 생산에는 다양한 전처리 방법이 이용되고 있다. 전통적인 방법으로는 물리화학적, 열화학적 방법이 대표적이며 대부분 고온에서 화학적 촉매를 이용한 방법이다(Lloyd and Wyman, 2005; Ferraz *et al.*, 2001). 최근에는 효율적인 전처리를 수행하고자 기존 전처리 방법을 변형시킨 유기용매, microwave, 오존, 수용성 이온(1-*n*-butyl-3-methylimidazolium chloride)의 이용과 같은 다양한 방법이 소개되고 있다(Pan *et al.*, 2005; Weerachanchai *et al.*, 2012).

Table 1. Acid-catalyzed hydrolysis conditions of xylan

Factor	Condition
Acid catalyst	Oxalic acid, Maleic acid, Sulfuric acid
Concentration of acid catalyst (mM)	0, 25, 50, 100
Reaction time (min)	0, 5, 10 30, 60

셀룰로오스계 바이오매스를 이용한 전처리는 주로 헤미셀룰로오스와 리그닌을 분해하여 효소가수분해 시 셀룰로오스에 효소의 접근을 용이하게 하거나 당화 과정에서 효율적인 발효가능한 당을 생산하기 위한 목적이다. 특히 산 촉매 전처리 과정에서 얻어지는 자일로스는 헤미셀룰로오스로부터 유래되는 대표적인 당이며 에탄올 발효에 관여하기도 한다. 하지만 자일로스는 전처리의 정도에 따라 자일로스에서 분해가 더욱 진행된 형태인 furfural로 전환되기도 한다(Rahman *et al.*, 2006). 따라서 자이란 가수분해 반응속도 분석을 통한 분해 메커니즘을 구명함으로써 최적의 발효가능한 당 생산 조건을 확립하는 것이 필요하다. 지금까지의 자이란 분해거동은 황산을 이용한 가수분해에 제한되어 연구되고 있으며 특히 옥살산과 황산에 의한 자이란 분해거동 비교에 대해서는 거의 보고되고 있지 않다(Kootstra *et al.*, 2009; Rafiqul and Sakinah, 2012). 따라서 본 연구에서는 산 촉매의 경제적이며 효율적인 전처리 적용을 위해 다양한 종류의 산 촉매에 따른 자이란 분해거동을 분해속도 측면에서 분석하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 자이란 산 가수분해

Beech wood xylan(> 90%)을 Sigma Aldrich에서 구입하여 사용하였다. 자이란 0.25 g에 액상의 산 촉매 25 ml를 첨가하였으며 120°C에서 시간에 따라 가수분해를 진행하였다. 자이란 산 가수분해 조건은 Table 1과 같다.

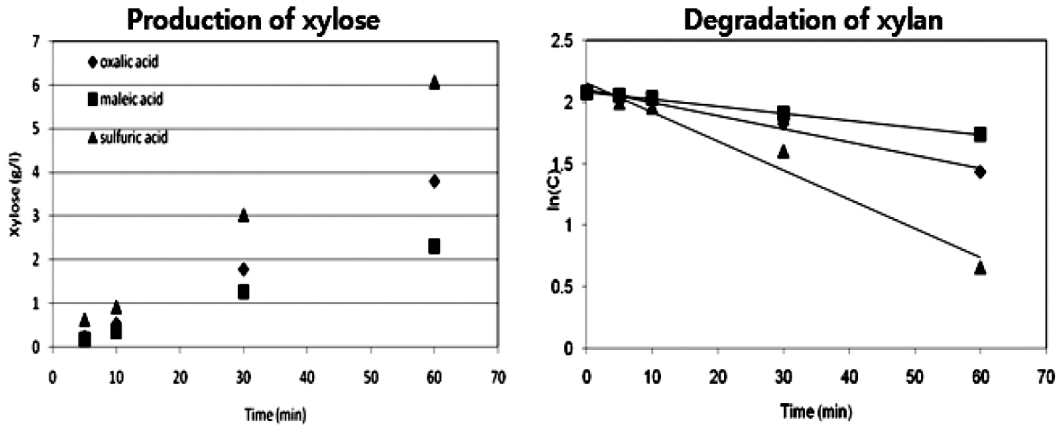


Fig. 1. Effect of acid catalyst and reaction time on xylan hydrolysis at 25 mM concentration of acid catalyst.

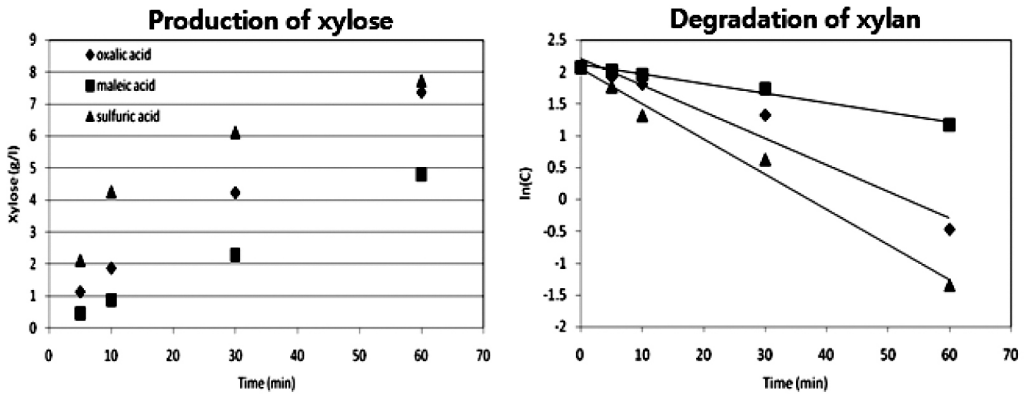


Fig. 2. Effect of acid catalyst and reaction time on xylan hydrolysis at 50 mM concentration of acid catalyst.

Table 2. Value of k_1 for xylan hydrolysis at different acid catalyst and concentration (unit : min^{-1})

Concentration (mM)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	0.01	0.005	0.023
50	0.041	0.015	0.055
100	0.053	0.032	0.059

2.2. 올리고머 분석

NREL의 실험 분석법(Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid

Fraction Process Samples)을 이용하여 가수분해산물에 포함된 올리고머의 함량을 측정하였다(Jensen *et al.*, 2010).

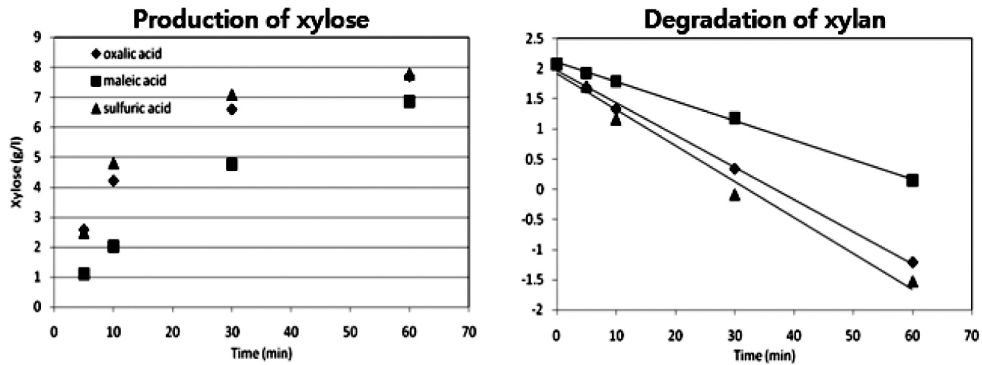


Fig. 3. Effect of acid catalyst and reaction time on xylan hydrolysis at 100 mM concentration of acid catalyst.

2.3. 가수분해산물 분석

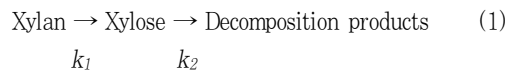
자이란 가수분해산물에 포함된 자일로스와 분해산물 농도는 HPLC (Waters 2695 system)를 이용하여 측정하였다. Aminex HPX-87H column (300 × 7.8 mm, Bio-rad, Hercules, USA)을 사용하였으며 컬럼 온도는 55°C로 유지시켰다. 이동상으로는 5 mM 황산을 사용하였고 flow rate는 0.3 ml/min으로 55분 동안 분석하였다. Refractive index detector (Waters 2414 system)를 사용하여 단당류 및 분해산물을 정량하였다. 분석용 시료는 모두 0.45 μm filter를 통과시켜 적절한 희석배율을 적용하여 분석을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 산 촉매 가수분해에 의한 자이란 분해

산 촉매에 따른 리그노셀룰로오스계 바이오매스의 헤미셀룰로오스 분해거동에 대한 기초자료를 획득하기 위해 모델 물질로 자이란을 선택하였다. 자이란 분해는 두 개의 분해 메커니즘으로 설명된다(Tellez-Luis *et al.*, 2002; Carrasco and Roy, 1992). 먼저 자이란이 1차적으로 올리고머로 분해된 후 자일로스, furfural로 순차적으로 분해된다는 반응과 올리고머의 중간산물을 거치지 않고 바로 자일로스로 분해되고 더 나아가서 furfural로 분해된다는 메커니즘

을 가지고 있다. 본 연구에서는 후자의 분해 메커니즘을 적용하여 식(1)의 two-fraction model을 사용하였으며 자이란 분해속도는 식(2)에 의해 유도하였다(Kootstra *et al.*, 2009; Rahman *et al.*, 2006). 25 mM의 서로 다른 산 촉매를 이용하여 가수분해하였을 때 자이란의 분해거동은 Fig. 1, Table 2와 같다. 자이란으로부터 자일로스 생성은 황산 촉매를 사용하였을 때 k_1 이 0.023 min⁻¹으로 가장 높은 분해속도 상수를 나타냈으며 다음은 옥살산으로 나타났다. 같은 반응시간에서 황산 촉매는 말레산 촉매에서보다 2배 이상의 자일로스를 생산하였다. 하지만 산 촉매 25 mM은 비교적 낮은 농도를 나타내고 있어 반응시간 60분에서도 최대 6 g/l의 자일로스를 생산하여 자이란의 완전한 분해는 이루어지지 않았다.



(k_1 : xylan으로부터 xylose 분해 속도, k_2 : xylose 분해로 분해산물 생산 속도)

$$-dC/dt = k_1 \cdot C \quad (2)$$

(C : 자이란 농도, t : 반응시간, k_1 : xylan 분해속도상수)

산 촉매 농도 50 mM에 대한 자이란 분해거동은 Fig. 2, Table 2와 같다. 말레산과 옥살산 촉매에서

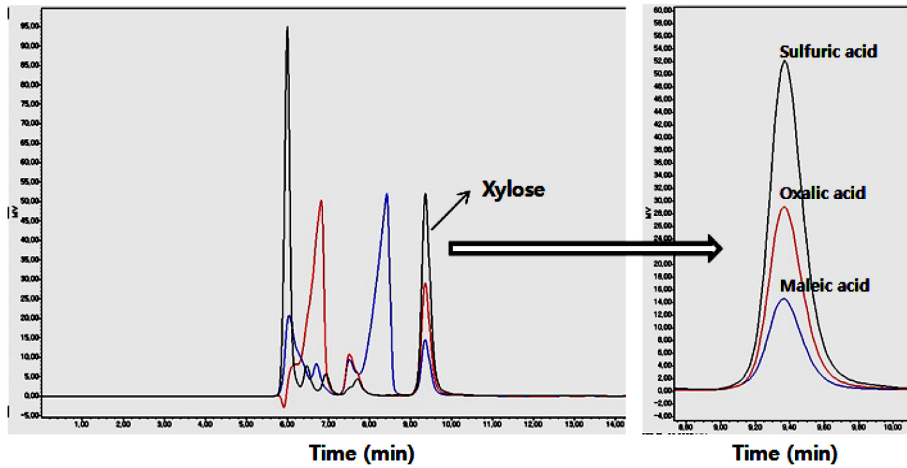


Fig. 4. HPLC analysis of hydrolysate obtained from xylan hydrolysis at 100 mM concentration of acid catalyst for 10 min.

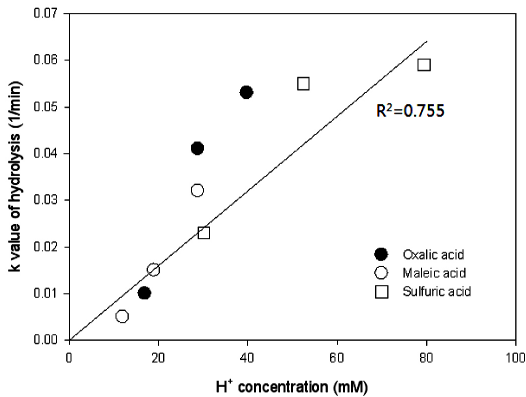


Fig. 5. Xylan hydrolysis rate at 120°C as function of H⁺ concentration (SA : sulfuric acid, MA : maleic acid, OA : oxalic acid).

자일로스 생성은 반응시간과 비례하였다. 하지만 황산은 짧은 반응시간에서 상대적으로 많은 자일로스를 생성하여 옥살산, 말레산 촉매와는 다른 경향을 나타냈다. 분해속도상수는 황산 촉매에서 0.055 min⁻¹로 가장 높게 나타났으며 옥살산 촉매에서도 0.041 min⁻¹로 높은 값을 나타냈다. 반면 말레산 분해속도상수는 0.015 min⁻¹로 매우 낮았다. 이것은 Kootstra 등의 연구결과와 일치하였으며 Kootstra 등은 50 mM 산 촉

매 농도에서 황산은 말레산보다 3배 이상의 높은 분해속도상수를 나타냈다고 보고하였다(2009).

산 촉매 농도 100 mM에서 자이란 분해거동은 Fig. 3, Table 2와 같다. 촉매별 반응시간에 대한 결과 중 반응시간 10분에 대한 HPLC 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 모든 산 촉매에서 짧은 반응시간 동안 자이란 분해가 진행되어 자이로스가 생성되었으며 분해속도상수는 황산에서 0.059 min⁻¹, 옥살산에서 0.053 min⁻¹으로 나타났다. 산 촉매 농도에 따라 분해거동을 분석한 결과 모든 농도에서 황산 촉매에 의한 자이란 분해가 가장 빠르게 이루어졌으며 산 촉매 농도가 증가할수록 옥살산의 분해속도상수는 급격하게 증가하였다. 하지만 같은 dicarboxylic acid인 말레산의 분해속도상수는 상대적으로 낮았다.

하지만 같은 몰 농도에서 산 촉매는 서로 다른 pH를 나타낸다. 가수분해정도를 나타내는 CSF (combined severity factor)는 반응온도, 시간, pH가 관여하기 때문에 자이란 가수분해 분해속도상수를 Fig. 5와 같이 수소이온농도에 따라 재해석하였다(Mosier *et al.*, 2002). 수소이온농도에 비례하여 분해속도상수도 증가하였으며 특히 비슷한 수소이온농도에서는(약 30 mM) 옥살산이 가장 높은 분해속도상수를 나타냈다. 이것은 옥살산이 다른 산 촉매와 비교하여 자이란 가수분해에 가장 적합한 것을 의미한다. 옥살산이 가수분해

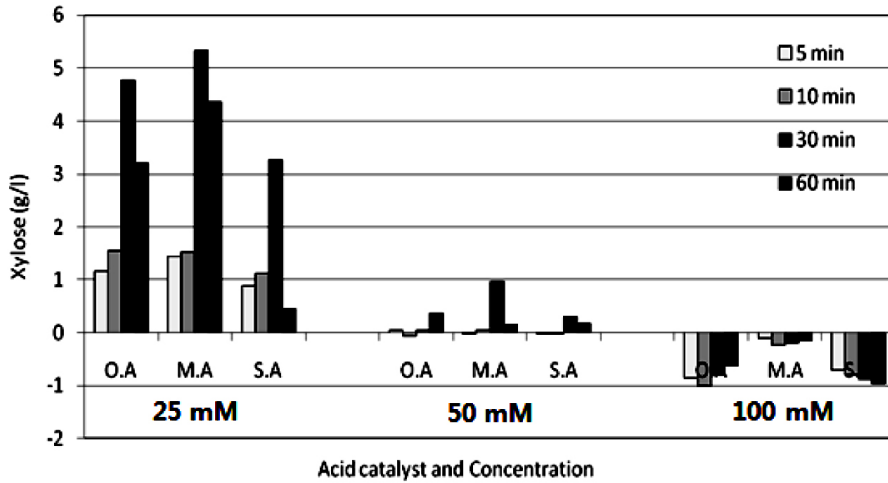


Fig. 6. Oligomer concentration in hydrolysate of xylan by acid catalyzed hydrolysis (SA : sulfuric acid, MA : maleic acid, OA : oxalic acid).

를 촉진하는 이유는 효소가수분해를 흉내 내는 bio-mimetic 효과로 설명할 수 있다(Shimada and Takahashi 1991). 일반적으로 효소가수분해는 기질과 효소의 산-염기 메커니즘에 의해 가수분해가 촉진된다. 이와 같은 산-염기 메커니즘은 효소의 활성 사이트에 존재하는 아미노산의 두 개의 carboxylic acid에 의해 유도된다(Mosier *et al.*, 2001). 따라서 옥살산과 같은 dicarboxylic acid는 이와 유사한 작용으로 자이란 가수분해를 촉진할 것으로 사료된다. 뿐만 아니라 dicarboxylic acid는 β -(1,4)-glycoside bonds를 선택적으로 분해하는 특징을 가지고 있어 황산 촉매와 비교하여 효율적인 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 분해를 예측할 수 있다(Mosier *et al.*, 2002).

3.2. 산 촉매 가수분해에 의한 올리고머 분석

자이란에 대한 산 촉매 가수분해를 수행한 후 가수분해 산물에 존재하는 올리고머를 분석하였다. NREL 방법에 의해 가수분해산물에 포함된 올리고머를 가수분해하여 단당의 형태인 자이로스스로 분해하였으며 기준에 존재하는 자이로스 함량은 반영하지 않고 올리고머에 포함된 자이로스 함량만을 분석하였다. 올리고머에 포함된 자일로스 함량은 식 (3)을 이용하

여 계산하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타냈다. 25 mM에서는 자이로스가 단당의 형태보다 올리고머의 형태로 존재하였으며 반응시간 60분을 제외하고 반응시간이 증가할수록 올리고머 함량은 가수분해산물에 존재하는 자이로스 함량에 비례하였다(Fig. 1). 산 촉매 농도가 증가할수록 올리고머 함량은 감소하였으며 가수분해에 의해 자이란이 자이로스스로 대부분 분해되었음을 확인할 수 있었다. 100 mM에 나타난 (-)값은 가수분해에 의해 생성된 자이로스가 2차 가수분해로 분해가 더욱 진행되어 furfural과 같은 분해산물로 전환되었음을 의미한다. 수소이온농도를 기준으로 분석한 결과 옥살산(50 mM), 말레산(100 mM)와 같은 dicarboxylic acid 촉매를 이용한 가수분해는 황산 촉매(25 mM) 가수분해에 비해 올리고머를 생성하기보다 단당의 형태인 자이로스를 생성하는 것으로 나타났다. 이것은 Lee 등의 연구결과와 일치하였다(2011).

올리고머에 포함된 자일로스(g/l)

$$= \text{올리고머 분석에 의해 얻어진 자일로스 함량} - \text{액상가수분해산물에 포함된 자일로스 함량} \quad (3)$$

4. 결 론

리그노셀룰로오스계 바이오매스는 산 촉매에 의해 우선적으로 헤미셀룰로오스가 분해되며 헤미셀룰로오스의 분해는 발효가능한 당 생성뿐만 아니라 다양한 발효저해물질을 생산한다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 산 촉매에 의한 헤미셀룰로오스 분해거동을 이해하고자 모델 물질로 자이란을 이용하여 가수분해거동을 분석하였다. 산 농도가 증가할수록 분해속도상수도 증가하였으며, 같은 농도의 산 촉매에서는 황산, 옥살산, 말레산의 순으로 나타났다. 하지만 수소이온농도를 기준으로 분해속도상수를 분석한 결과 옥살산을 촉매로 하였을 때 가장 높은 분해속도상수를 나타냈다. 본 연구에서는 단일 반응온도 120°C에서 수행하여 자이로스에서 furfural로의 분해에 관여하는 분해속도상수(k_2)에 대한 분석이 이루어지지 못하였다. 따라서 앞으로 다양한 온도에서 가수분해를 수행하여 분해속도와 온도와의 관계 및 furfural 생성에 관여하는 k_2 분석이 필요하다. 이와 같이 산 촉매에 따른 자이란 분해거동에 대한 분석은 리그노셀룰로오스계 바이오매스에 포함되어 있는 헤미셀룰로오스 분해에 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 생명산업기술개발사업에 의해 이루어진 것임(112033-01-1-SB010).

참 고 문 헌

- Carrasco, F. and C. Roy. 1992. Kinetic study of dilute-acid-pre-hydrolysis of xylan containing biomass. *Wood Science and Technology* 26: 189~208.
- Ferraz, A., J. Rodriguez, J. Free, and J. Baeza, 2001. Biodegradation of *Pinus radiata* softwood by white- and brown-rot fungi. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 17: 31~34.
- Jensen, J. R., J. E. Morinelly, K. R. Gossen, M. J. Brodeur-Campbell, and D. R. Shonnard. 2010. Effects of dilute acid pretreatment conditions on enzymatic hydrolysis monomer and oligomer sugar yields for aspen, balsam, and switchgrass. *Bioresource Technology* 101: 2317~2325.
- Kootstra, A. M. J., N. S. Mosier, E. L. Scott, and H. H. Beeftink. 2009. Differential effects of mineral and organic acids on the kinetics of arabinose degradation under lignocellulose pretreatment conditions. *Biochemical Engineering Journal* 43: 92~97.
- Lee, J. W. and T. W. Jeffries. 2011. Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity factors. *Bioresource Technology* 102: 5884~5890.
- Lloyd, T. A. and C. E. Wyman. 2005. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Bioresource Technology* 96: 1967~1977.
- Mosier, N. S., A. Sarikaya, C. M. Ladisch, and M. R. Ladisch. 2001. Characterization of dicarboxylic acids for cellulose hydrolysis. *Biotechnology Progress* 17(3): 474~480.
- Mosier, N. S., C. M. Ladisch, and M. R. Ladisch. 2002. Characterization of acid catalytic domains for cellulose hydrolysis and glucose degradation. *Biotechnology and Bioengineering* 79: 610~618.
- Pan, X., C. Arato, N. Gilkes, D. Gregg, W. Mabee, K. Pye, Z. Xiao, X. Zhang, and J. N. Saddler. 2005. Biorefining of softwoods using ethanol organosolve pulping: preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products. *Biotechnology Bioengineering* 90: 473~481.
- Rafiqul, I. S. M. and A. M. M. Sakinah. 2012. Kinetic studies on acid hydrolysis of *Meranti* wood sawdust for xylose production. *Chemical Engineering Science* 71: 431~437.
- Rahman, S. H. A., J. P. Choudhury, and A. L. Ahmad. 2006. Production of xylose from oil palm empty fruit bunch fiber using sulfuric acid. *Biochemical Engineering Journal* 30: 97~103.
- Shimada, M. and M. Takahashi. 1991. Biodegra-

- dation of cellulosic materials. In *Wood and Cellulosic Chemistry*. M. Dekker; New York, Chapter 13.
13. Soderstrom, J., L. Pilcher, M. Galbe, and G. Zacchi. 2003. Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H_2SO_4 impregnation for ethanol production. *Biomass Bioenergy* 24: 475~486.
 14. Sun, Y. and J. Cheng. 2002. Hydrolysis of ligno-cellulosic materials for ethanol production. *Bioresource Technology* 83: 1~11.
 15. Tellez-Luis, S. J., J. A. Ramirez, and M. Vazquez. 2002. Mathematical modelling of hemicellulose sugar production from sorghum straw. *Journal of Food Engineering* 52: 285~291.
 16. Weerachanchai, P., S. S. J. Leong, M. W. Chang, C. B. Ching, and J. M. Lee. 2012. Improvement of biomass properties by pretreatment with ionic liquids for bioconversion process. *Biore-source Technology* 111: 453~459.
 17. Wingre, A., M. Galbe, and G. Zacchi. 2008. Energy consideration for a SSF-based soft-wood ethanol plant. *Bioresource Technology* 99: 222~231.