

이온성 액체에 의한 거대억새 전처리 특성 및 리그닌의 구조적 변화 관찰¹

박 신 영² · 황 혜 원² · 장 수 경² · 최 인 규² · 최 준 원^{3,†}

Study on Pretreatment of Giant Miscanthus Using Ionic Liquid and Structural Change of Lignin¹

Shin Young Park² · Hyewon Hwang² · SooKyeong Jang² · In Gyu Choi² · JoonWeon Choi^{3,†}

요 약

이온성 액체를 이용한 거대억새의 전처리 특성을 알아보기 위하여 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate ([Emim][OAc]) 와 1-butyl-3-methylimidazolium acetate ([Bmim][OAc]) 두 종류의 이온성 액체로 90℃, 110℃, 130℃ 세 온도조건에서 전처리를 진행하였다. 반응 온도가 높아짐에 따라 cellulose-rich product (CP)의 수율은 87.2%에서 67.6%로 점차 감소하였으며 ionic liquid lignin (ILL)의 수율은 2.2%에서 9.9%로 증가하였다. CP는 ILL에 비해 탄소함량은 낮았지만, 산소함량은 높게 나타났다. CP의 효소당화 결과 110℃에서 [Emim][OAc]로 전처리하여 얻은 CP의 당화율이 56.7%로 가장 높게 나타났다. ILL의 열중량 분석 결과에 의하면 전처리 온도가 증가함에 따라 최대분해율은 점차 감소하였으며, 최대분해온도는 [Emim][OAc]로 처리한 ILL이 274~279℃로 [Bmim][OAc]의 2701~294℃보다 낮은 경향을 나타내었다. 전처리 온도가 90℃에서 130℃로 증가함에 따라 ILL 내 β-O-4 결합빈도는 [Emim][OAc]의 경우 2315 μmol/g에서 591 μmol/g으로, [Bmim][OAc]의 경우 1936 μmol/g에서 2478 μmol/g으로 감소하였다. ILL의 S/G ratio는 [Bmim][OAc]용액으로 110℃에서 처리하였을 때 1.2로 가장 높게 나타났다.

ABSTRACT

To investigate the effects of ionic liquid pretreatment on biomass, giant miscanthus was treated with 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate ([Emim][OAc]) and 1-butyl-3-methylimidazolium acetate ([Bmim][OAc]) at three temperature conditions (90℃, 110℃, and 130℃). As temperature condition increased, yield of the cellulose-rich product (CP) was reduced from 87.2% to 67.6%, while yield of the ionic liquid lignin (ILL) increased from 2.2% to 9.9%. Compared to the ILL, CP had lower carbon contents and higher oxygen contents. Enzymatic hydrolysis of CPs showed that

¹ Date Received October 28, 2014, Date Accepted December 3, 2014

² 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부. Department of Forest Sciences, CALS, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

³ 서울대학교 국제농업기술대학원/그린바이오연구원. Graduate School of International Agricultural Technology and Institute of Green-Bio Science and Technology, Pyeonchang 232-916, Korea

[†] 교신저자(Corresponding author) : 최준원(e-mail: cjl@snu.ac.kr)

conversion ratio of CP treated with [Emim][OAc] at 110°C was 56.7%, the highest digestibility. Thermogravimetric analysis indicated that the maximum degradation rate decreased as temperature condition increased. In addition, maximum degradation temperature of ILL treated with [Emim][OAc] ranged from 274 to 279°C which was lower than that of ILL treated with [Bmim][OAc]. Analytical data for β -O-4 linkage frequency in the ILL revealed that β -O-4 linkage frequency in the ILL decreased as the temperature rose. Furthermore, the highest S/G ratio of the ILL was determined to ca. 1.2 obtained from [Bmim][OAc] treatment at 110°C.

Keywords : giant miscanthus, ionic liquid, pretreatment, cellulose-rich product, ionic liquid lignin, enzymatic hydrolysis

1. 서 론

지속적인 화석연료의 사용으로 인해 전 세계적으로 탄소배출량의 증가, 기후변화 등의 환경문제와 화석연료의 고갈위기가 대두됨에 따라 이를 대체할 수 있는 신·재생에너지에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그중 대체 에너지원으로 주목받고 있는 바이오매스는 작물 또는 목재와 같이 지구상에 존재하는 모든 생물 유기체로부터 얻을 수 있는 자원으로, 탄소중립적이고 온실가스 방출량이 적으며 풍부한 자원의 지속적 확보가 가능하고 가격 경쟁력이 있는 등 다양한 장점을 가지고 있다.

국내에서 생산되는 대표적인 바이오매스 자원 중 하나인 거대역새(Giant miscanthus)는 생산에 투입되는 에너지가 적으면서도 생산율이 높으며 바이오에탄올과 같은 연료로 사용될 수 있고 폐놀성 화합물인 리그닌으로 향후 플라스틱 등 고부가가치 산물을 만드는 등 미래에너지 자원으로 주목받고 있다(Lee *et al.* 2013).

하지만 초본계·목질계 바이오매스의 경우 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스, 리그닌이 복잡하게 엉켜 있기 때문에 고유의 난분해성을 가지며 이는 에너지화 과정에서 처리 시간 및 소요 비용 증대 등의 어려움을 야기한다. 특히 리그닌 성분은 복잡한 3차원적 망상 구조를 가지며 그 구조가 정확히 밝혀지지 않아 이를 분해해내는데 어려움이 있다. 더불어 셀룰로오스의 결정성 영역 또한 효소의 접근을 방해하여 난분해성을 초래하는 주요 원인이 된다. 이로 인해 초본계·목질계 바이오매스의 처리 공정에서는 셀룰

로오스 결정성 영역 및 리그닌의 구조를 와해시키기 위해 전처리 과정을 거치게 되는데 그 방법으로는 이온성 액체, 산, 염기, 폭쇄증기법, 생물학적 방법 등 다양한 방법이 존재한다.

이온성 액체(Ionic liquid)는 상온에서 액체 상태로 존재하면서도 이온결합을 형성하고 있는 액체를 의미하며 불연성, 낮은 휘발성, 열적 안정성 및 재사용 가능이라는 장점을 가지기 때문에 다양한 분야에 이용이 가능할 것으로 기대되는 용매이다(Sheldon *et al.* 2002). 더욱이 이온성 액체는 필요에 따라 양이온과 음이온을 적절하게 선택하여 용매의 특성을 임의적으로 조절할 수 있으며, 이러한 특성으로 인해 이온성 액체는 향후 유기용매를 대체할 용매로 주목받고 있다. 또한 이온성 액체는 바이오매스 전처리 과정에서도 용이하게 적용될 수 있으며 기존 연구에 따르면 이온성 액체를 통해 바이오매스를 전처리했을 경우 셀룰로오스의 결정화도를 감소시키고 리그닌을 선택적으로 제거하는 등의 기작을 통해 효소접근성을 높여주는 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다(Samayam and Schall 2010; Fu and Mazza 2011; Li *et al.* 2010; Li *et al.* 2011). 하지만 전처리 특성에 영향을 미친다고 알려져 있는 최적의 온도 조건에 따른 이온성 액체의 전처리 효과에 대한 연구는 미비한 실정이며 이온성 액체의 특성상 용액 내 다양한 이온 분포에 따른 처리 효과 또한 연구될 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate ([Emim][OAc])와 1-butyl-3-methylimidazolium acetate ([Bmim][OAc]) 두 종류의 이온성 액체로 거대

역사를 세가지 온도 조건 하에 전처리하여 생성되는 산물의 특성을 비교 및 분석하였으며 특히 이때 전처리 부산물로 생산되는 이온성 액체 리그닌을 따로 회수함으로써 용매 및 온도 조건에 따른 리그닌의 구조적 변화를 관찰하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 공시재료

본 연구에서는 거대역사를 공시재료로 사용하였으며 0.5 mm의 입자 크기로 분쇄한 후 시료 내 수분 함량 제거를 위해 실험 전 75°C의 오븐에서 건조시킨 후 전처리를 진행하였다. 이온성 액체로는 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate (97%, Sigma Aldrich)와 1-butyl-3-methylimidazolium acetate (≥ 95%, Sigma Aldrich)를 사용하여 전처리를 진행하였다.

2.2. 역사 시료 조성

공시재료 거대역사의 원소조성을 알아보기 위하여 LECO corp.의 원소분석기 CHNS 932를 이용하여 탄소, 수소, 질소의 원소조성비를 측정하였다.

거대역사의 화학 조성을 알아보기 위하여 홀로셀룰로오스, 리그닌, 추출물, 회분의 함량을 측정하였다(Sluite *et al.* 2005; Sluite *et al.* 2008). 홀로셀룰로오스의 경우 시료와 증류수에 아세트산과 NaClO₂ 시약을 첨가하여 반응시킨 뒤 남아있는 시료의 무게 변화를 계산하였다. 리그닌은 72% 황산 용액을 시료와 혼합하여 30°C에서 한 시간 반응 후 4% 용액으로 희석하여 121°C autoclave에서 반응 후 남아있는 시료의 무게 변화를 계산하였다. 또한 시료에 존재하는 추출물의 양은 에탄올 : 벤젠 = 1 : 2 v/v 혼합 용액을 6시간 동안 반응 후 남아있는 시료의 무게 변화를 계산하였다. 회분의 경우 600°C 회화로에서 8시간 반응 후 시료의 무게변화를 측정하였다.

주요 단당류 성분과 함량은 리그닌 정량 과정에서 제조한 황산가수분해액을 60배 희석한 후 CarboPac

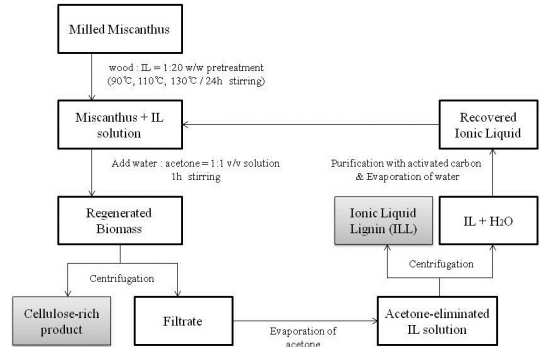


Fig. 1. Diagram of ionic liquid pretreatment of giant miscanthus.

PA100 column (4 × 250 nm)과 ED50 pulsed amperometric detector가 장착된 고성능이온교환크로마토그래피(HPAEC, Aionex system)를 이용하여 정량하였다.

2.3. 이온성 액체를 이용한 전처리

이온성 액체의 전처리 방법은 Sun *et al.* (2009)의 방법에 착안하여 이를 부분적으로 개조하여 진행하였으며 자세한 실험 방법은 다음과 같다. 거대역사 시료와 이온성 액체를 1 : 20 w/w로 혼합하여 각각 24시간 동안 교반하여 전처리를 진행하였다. 그 후 증류수와 아세톤을 1 : 1 v/v로 혼합한 반응매(anti-solvent)를 첨가하여 1시간 동안 상온에서 교반시켜 전처리된 바이오매스를 석출하였으며, 이후 진공 여과를 통하여 cellulose-rich product (CP)를 얻어내었다. 여과액은 진공압을 이용하여 아세톤 증발 후 원심분리를 통해 ionic liquid lignin (ILL)을 분리해내었다. ILL을 분리하고 남은 용액은 이온성 액체의 재활용을 위해 다시 진공압으로 증류수를 증발한 후 회수하여 사용하였으며 종합적인 전처리 모식도를 Fig. 1에 나타내었다.

2.4. 이온성 액체 전처리 산물의 구조적·화학적 특성 분석

2.4.1. 원소 분석

전처리를 통해 얻어낸 산물의 원소조성비 분석을 위해 2.2와 같은 방법으로 원소분석을 시행하였다.

2.4.2. X-ray Diffractometry (XRD) 분석

전처리에 따른 역새의 셀룰로오스 결정화도 변화를 관찰하기 위해 Powder X-ray Diffractometry (Bruker D8 ADVANCED with DAVINCI, Germany)를 사용하였다. 분석은 $2\theta = 10^\circ \sim 30^\circ$ 에서 이루어졌으며 분석조건으로는 40 kV, 40 mA, scanning speed = 0.1 °/min을 적용하였다.

2.4.3. 효소 당화

전처리 조건과 당화시간에 따른 효소 당화율을 확인하기 위하여 cellulase complex (NS22086)와 β -glucosidase (NS22118)를 통해 효소 당화를 시행하였다. 당화는 각각 24시간, 48시간, 72시간 동안 50°C에서 진행되었으며, 이후 당화액에 존재하는 글루코오스의 함량을 측정하여 당화효율(conversion ratio)을 확인하였다.

Conversion ratio (%) =

$$\frac{\text{글루코오스로 전환된 CP의 무게 (g)}}{\text{전체 CP의 무게 (g)}} \times 100$$

2.4.4. 열적 분해 거동 분석

Ionic liquid lignin의 열적 분해 거동을 관찰하기 위하여 Q-5000 IR 기기(TA instruments, USA)를 이용하여 열중량 분석을 시행하였다. 분석은 10 °C/min 조건에서 진행하였으며, 측정범위는 40~800°C로 설정하였다.

2.4.5. 리그닌 내 arylglycerol- β -aryl ether (β -O-4) 결합 빈도

ILL 내에 존재하는 β -O-4 결합 빈도를 측정하기

위하여 다음과 같은 방법으로 Nitrobenzene oxidation (NBO)을 진행하였다(Leopold and Malmström, 1951). 약 20 mg의 ILL을 10 ml 시험관에 담고 2 M NaOH 40 ml와 nitrobenzene 250 μ l를 첨가한 뒤 170°C에서 20분마다 교반하며 2시간 동안 반응시켰다. 반응시킨 혼합물을 냉각시킨 뒤 표준물질로 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde : Methanol = 1 g : 20 ml을 혼합하여 5 μ l 첨가하였고, 이를 분별깔때기에서 20 ml의 CH₂Cl₂로 2반복 추출하여 남아있는 nitrobenzene과 그 환원물들을 제거하였다. 이후 4 M의 HCl을 이용하여 pH를 1~2로 맞춘 뒤 다시 CH₂Cl₂로 2반복 추출하여 마지막에 추출한 용액을 회수하였다. 회수한 용액은 anhydrous sodium sulfate를 이용하여 수분을 제거한 뒤 진공감압을 통해 용매를 증발시켰다. 이를 다시 ether 1 ml로 녹인 후 autosampler vial에 담아 100°C에서 ether를 증발시켰다. 여기에 100 μ l의 pyridine과 100 μ l의 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide를 첨가하여 105°C에서 2시간 동안 반응시킨 뒤 GC/MS를 이용하여 정량분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 역새시료 조성

공시재료인 역새의 화학조성 및 단당류 성분과 함량을 Table 1에 나타내었다. 실험 결과, 에너지 작물인 역새는 일반 목재에 비해 홀로셀룰로오스와 추출물의 양이 많으며 리그닌의 양은 더 적다. 이는 전처리 산물인 CP와 ILL의 수율에 영향을 미쳤을 것으로 예상된다.

3.2. 이온성 액체 전처리 산물 수율

두 종류의 이온성 액체와 온도 변화 조건에 따른 CP와 ILL의 수율을 Table 2에 나타내었다.

온도 변화에 따른 CP의 수율 변화를 살펴보면 [Emim][OAc]와 [Bmim][OAc]로 전처리했을 때 모두 온도가 90°C에서 130°C로 증가함에 따라 CP의 수율

Table 1. Chemical composition and monosaccharide analysis of giant miscanthus

Elemental analysis (%)		Compositional analysis (wt%)		Monosaccharide analysis (mg/g)	
C	43.2	Holocellulose	75.1	Arabinose	21.5
H	5.6	Lignin	18.4	Galactose	5.5
N	0.3	Extractives	7.2	Glucose	424.3
O	56.9	Ash	4.3	Xylose	214
				Mannose	3.1
				Total	668.4

Table 2. Yields of pretreatment products according to kinds of ionic liquid and temperature conditions (wt%)

		90℃	110℃	130℃
[Emim][OAc]	CP ^a (%)	86.0	72.4	67.6
	ILL ^b (%)	2.2	2.3	9.9
[Bmim][OAc]	CP ^a (%)	87.2	79.1	67.8
	ILL ^b (%)	2.9	5.7	7.3

^aCellulose-rich product
^bIonic liquid lignin

이 약 20% 정도 감소함을 알 수 있다. 이는 전처리 온도가 높아질수록 이온성 액체의 점도가 낮아지고 전도도는 높아져 셀룰로오스의 용해도가 증가하며 (Zhang *et al.* 2005; Sun *et al.* 2009), 동시에 높은 온도로 인해 셀룰로오스의 열화가 일어나기 때문이라고 볼 수 있다(Sun *et al.* 2009).

한편 리그닌의 경우 이온성 액체에 의한 분해 메커니즘에 대해서는 아직 정확히 밝혀지지 않았으나, 이온성 액체의 양이온에 의한 리그닌의 α-O-4, β-O-4 결합 등이 끊어짐에 따라 분해가 진행될 수 있다(김재영 등 2012). ILL의 수율을 살펴보면 [Bmim][OAc]와 [Emim][OAc] 모두 온도가 증가함에 따라 수율이 증가함을 볼 수 있으며 특히 130℃ 조건에서 7.3~9.9%로 급격히 증가하였음을 알 수 있다. 이는 처리온도가 높아질수록 리그닌의 분해가 더욱 일어남을 의미한다(Tan and Lee 2012). 실험 진행 과정 중 130℃ 조건의 경우 바이오매스의 겔(gel)화 현상이 두드러지며 CP와 ILL 간 분리뿐만 아니라 전처리 산물과 이온성 액체 간 분리 또한 어려움이

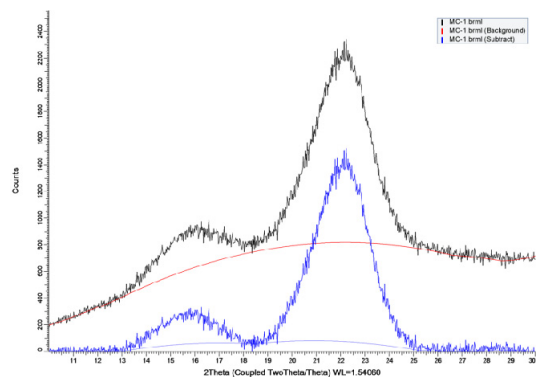


Fig. 2. XRD analysis of giant miscanthus.

따르는 것으로 나타났다. 이러한 현상은 산물의 수율에도 영향을 미쳤을 가능성이 있으며 이는 앞서 언급한 바와 같이 높은 온도 조건에서 셀룰로오스의 용해도 증가와 리그닌 고분자 구조의 와해로 인해 이온성 액체와의 반응성이 높아지는 것으로 추정된다.

3.3. 전처리 산물의 원소조성

두 종류의 이온성 액체에 의한 전처리 과정에서 획득한 CP와 ILL의 원소조성비는 Table 3에 나타내었다. CP의 경우 탄소 함량이 41.2~46.8% 정도로 일반 바이오매스와 비슷한 수준이었으나 ILL의 경우 58.9~65.2% 정도로 탄소 함량이 더 높은 것을 확인할 수 있다. 반면 산소함량은 CP가 ILL에 비해 더 높은 것으로 나타났다. 질소함량은 본래 역새시료에 존재하던 양보다 대체로 증가한 것을 볼 수 있는데,

Table 3. Elemental analysis of pretreatment products (%)

		CP				ILL			
		C	H	N	O	C	H	N	O
[Emim][OAc]	90℃	43.2	6.0	0.7	50.1	61.1	6.0	4.8	28.1
	110℃	41.2	6.2	0.4	52.2	58.9	6.0	3.2	31.9
	130℃	45.4	6.4	3.3	44.9	61.2	5.7	7.0	26.1
[Bmim][OAc]	90℃	46.8	6.8	1.6	44.8	60.8	6.2	2.9	30.1
	110℃	46.3	7.1	3.9	42.7	61.2	6.1	3.4	29.3
	130℃	43.7	6.3	3.0	47.0	65.2	6.7	8.3	19.8

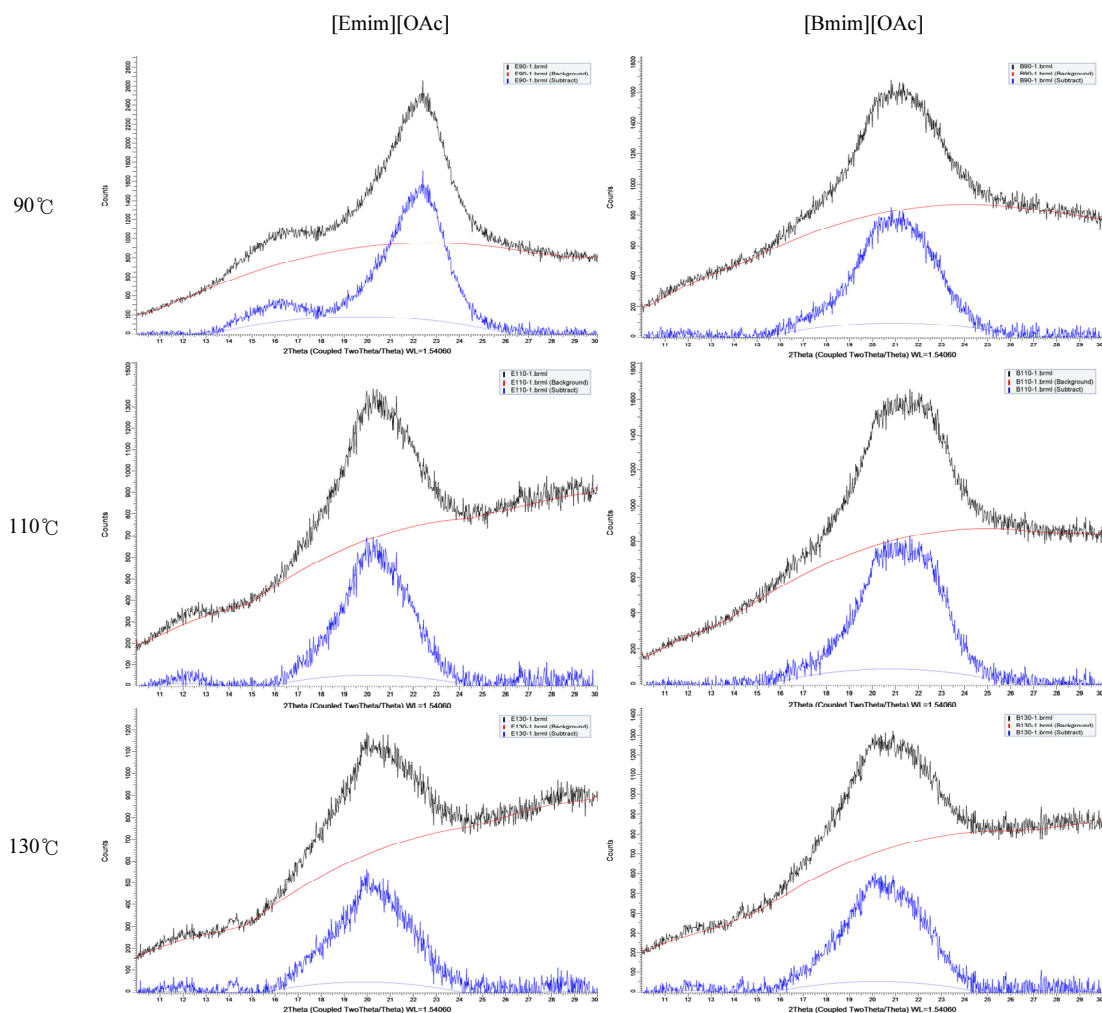


Fig. 3. XRD analysis of CPs according to ionic liquids and temperature conditions.

Table 4. Dissolved ratio of CPs in enzymatic solution (wt%)

		24 h	48 h	72 h
Giant miscanthus	-	7.3	8.1	8.7
[Emim][OAc]	90℃	78.1	78.9	80.1
	110℃	87.4	88.5	93.8
	130℃	91.1	90.5	93.9
[Bmim][OAc]	90℃	82.7	83.8	79.4
	110℃	87.6	94.3	95.3
	130℃	87.2	87.4	88.6

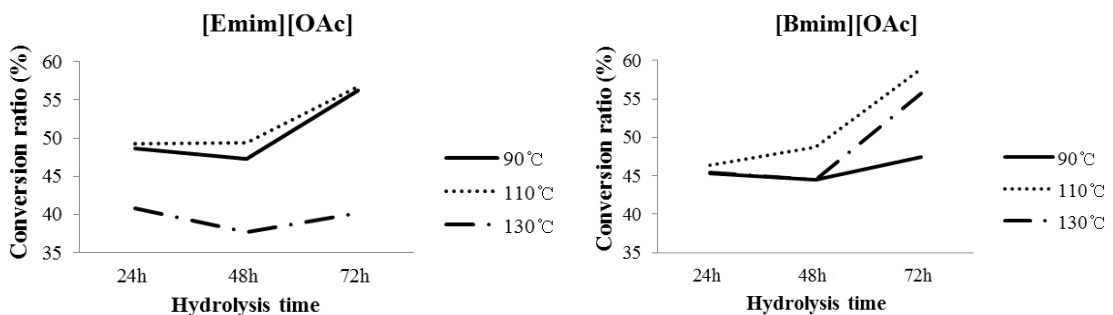


Fig. 4. Conversion ratio of CPs to glucose according to hydrolysis time.

이는 전처리에 사용된 이온성 액체에서 소량 유래한 것으로 사료된다. 특히 130℃ 조건에서 얻어낸 산물들의 다소 높은 질소 함량은 이온성 액체에 대한 셀룰로오스의 용해도가 높아 산물을 회수하는 과정에서 이온성 액체가 이들과 결합하여 미량이 잔존하는 것으로 보인다. 또한 CP에 비해 ILL에 질소 함량이 7~8.3%로 높은 이유는 전처리 과정 중 이온성 액체의 양이온([Emim]⁺, [Bmim]⁺)이 리그닌 내 친핵체 원소인 산소에 흡착되었기 때문으로 판단된다(김재영 등 2012).

3.4. X-ray Diffractometry (XRD) 분석

셀룰로오스의 결정영역은 당화과정에서의 효소의 접근을 방해하여 당화효율을 떨어뜨리기 때문에 결정화도는 효소당화율 및 수율과 반비례 관계에 있다(Hall *et al.* 2010). 따라서 바이오매스 내 결정 영역 변화를 분석함으로써 효율적인 전처리 조건을 예상

할 수 있다.

이온성 액체는 셀룰로오스의 수산기와 수소결합을 형성하면서 기존에 있던 셀룰로오스 간의 수소결합을 끊어주게 된다. 이때 이온성 액체의 음이온이 수산기의 수소와 결합하게 되는데 이는 이온성 액체의 양이온보다 수산기의 수소가 더 강한 hydrogen bonding donor이기 때문으로 알려져 있다(Zhang *et al.* 2010).

이온성 액체의 전처리에 의해 셀룰로오스 결정화도는 전처리를 하지 않았을 경우나 산 전처리를 했을 경우보다 크게 감소하는 것으로 나타났다(Li *et al.* 2010; Li *et al.* 2011). Fig. 2의 역새와 Fig. 3의 CP의 XRD 분석결과를 비교해보면, 역새에 비해 CP의 XRD 그래프가 더 넓고 완만한 형태를 띠고 있으며 특히 전처리 온도가 증가함에 따라서도 이러한 경향이 두드러지는 것을 확인할 수 있다. 이는 전처리를 통해 바이오매스의 결정성이 감소하였으며, 처리온도가 증가할수록 셀룰로오스의 비결정화가 촉진

Table 5. TG and DTG analysis of ILL from various conditions of pretreatment

	Temperature at max. rate (°C)	Yield (wt%)		Max. degradation rate (wt%/°C)
		Volatiles	Char	
[Emim][OAc]	90°C	69.50	30.50	0.43
	110°C	87.19	12.81	0.39
	130°C	64.57	35.43	0.27
[Bmim][OAc]	90°C	69.81	30.19	0.43
	110°C	84.21	15.79	0.37
	130°C	69.30	30.70	0.34

된다는 것을 의미한다.

3.5. 효소 당화

이온성 액체를 통한 전처리는 셀룰로오스의 결정화도를 감소시키고 리그닌의 분해를 일으켜 당화효소의 셀룰로오스로 접근을 용이하게 한다(Sun *et al.* 2009). 전처리 조건별 당화효율을 확인하기 위해 당화를 진행하였으며 Table 4와 Fig. 4에 그 결과를 나타내었다.

Table 4의 당화액에 용해된 CP의 비율을 보면 대체로 전처리 온도가 높고 당화시간이 길수록 비율이 높아짐을 확인할 수 있다. 이는 전처리 온도가 높아질수록 CP의 결정화도가 감소하고 표면적이 늘어나기 때문인 것으로 보인다.

Fig. 4를 보면 90°C와 110°C에서 [Emim][OAc]로 전처리했을 때의 글루코오스 수율은 46.7~56.7%로 [Bmim][OAc]의 44.5~55.7%보다 대체로 더 높은 것을 볼 수 있다. 이는 [Emim][OAc]는 [Bmim][OAc]보다 더 짧은 양이온기를 가지고 있어 입체장애가 덜 일어나 셀룰로오스 분자에 접근하여 수소결합을 끊어주기가 용이하기 때문에 전처리 효과가 더 높은 것으로 사료된다(Mora-Pale *et al.* 2011; Sun *et al.* 2009; Mäki-Arvela *et al.* 2010). 전처리 온도조건에 따른 당화효율을 살펴보면 110°C에서 전처리했을 경우에 당화효율이 가장 높은 것으로 나타났으며, 당화시간 별로는 48시간에서 72시간 사이에 전환율이 평균 45.4%에서 52.5%로 크게 증가하는 것으로 나타났다. 다만 130°C에서 전처리했을 경우에

는 [Bmim][OAc]의 글루코오스 수율이 55.7%로 [Emim][OAc]의 40.2%보다 더 높은 것을 알 수 있는데, 이는 [Emim][OAc]로 130°C에서 전처리할 경우 셀룰로오스의 열화가 과다하게 일어나 실제 얻어진 CP에 함유된 순수한 셀룰로오스의 양이 적으며, CP에 잔존한 이온성 액체가 효소의 활성을 방해하였기 때문인 것으로 보인다.

3.6. ILL의 열분해 거동 분석

ILL의 열분해 거동을 살펴보기 위해 열중량 분석을 실시하였으며, 이에 따른 volatile과 char의 비율, 최대중량감소율, 최대중량감소율이 나타나는 온도를 Table 5에 나타내었다.

전처리에 사용된 이온성 액체 종류의 경우 열분해 거동 중 최대중량감소율이 나타나는 온도, 즉 최대분해온도에 영향을 미쳤으며 [Emim][OAc]로 전처리했을 때 최대분해온도는 274.06~279.41°C였으나 [Bmim][OAc]로 전처리했을 때는 270.51~294.76°C로 전자의 경우 그 지점이 더 낮은 것을 확인할 수 있다. 이는 이온성 액체의 양이온의 화학적 구조 차이에 기인하는 것으로 [Emim][OAc]의 경우 [Bmim][OAc]에 비해 더 짧은 사슬구조로 인해 바이오매스 내 리그닌에 대한 접근성이 높아져 이 구조를 좀 더 와해시키는 데에 유리하였기 때문으로 판단된다. 한편 일반적으로 바이오매스의 경우 열중량 분석 시 250~300°C 부근에서 셀룰로오스 내 글리코시드 결합이 끊어지며 헤미셀룰로오스의 분해가 일어나는 지점과 300~400°C에서 셀룰로오스 올리고

Table 6. Amount of NBO products from ILL according to pretreatment conditions ($\mu\text{mol/g}$)

	G unit		S unit		Total	S/G ratio	
	Vanillin	Vanillic acid	Syringaldehyde	Syringic acid			
[Emim][OAc]	90 $^{\circ}\text{C}$	486.5	854.5	476.5	497.5	2315.0	0.7
	110 $^{\circ}\text{C}$	215.5	485.0	286.0	473.3	1459.8	1.1
	130 $^{\circ}\text{C}$	263.9	64.2	197.2	65.3	590.6	0.8
[Bmim][OAc]	90 $^{\circ}\text{C}$	541.7	833.7	235.8	324.6	1935.8	0.4
	110 $^{\circ}\text{C}$	471.7	301.5	593.9	339.0	1706.1	1.2
	130 $^{\circ}\text{C}$	180.0	14.9	36.7	15.2	246.8	0.3

고머의 저분자화 반응이 일어나는 지점이 존재한다 (Arseneau 1971). 또한 리그닌의 경우 200 $^{\circ}\text{C}$ ~600 $^{\circ}\text{C}$ 정도의 광범위한 온도조건에서 지속적으로 분해되는 특성이 있으며 높은 온도 조건일수록 더 많은 양의 리그닌 고분자가 분해된다고 알려져 있다(Sharma and Hajaligol 2003). 본 연구에서는 최대중량감소율이 나타나는 온도가 250~300 $^{\circ}\text{C}$ 사이에 존재하므로 전처리 후 ILL과 결합되어 남아있던 헤미셀룰로오스가 다소 존재하는 것으로 보인다. 최대중량감소율이 나타나는 온도는 두 종류의 이온성 액체 모두 110 $^{\circ}\text{C}$ 로 처리했을 때 가장 낮게 나왔는데, 이는 110 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 얻어낸 ILL의 중량평균분자량이 가장 낮다는 것을 의미하며 중량평균분자량이 낮은 이유는 α -O-4, β -O-4 등의 리그닌 결합이 깨지면서 리그닌이 저분자화되었기 때문으로 추정된다(Sun *et al.* 2000). 다만 130 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 최대중량감소율이 나타나는 온도가 높게 나온 이유는 3.2에서 언급한 바와 같이 높은 온도 조건으로 인해 ILL과 결합되어 남아있던 셀룰로오스 부산물들 및 이온성 액체 등이 잔존하기 때문으로 보인다.

최대중량감소율은 전처리 온도가 높아질수록 점차 감소하였으며 이는 높은 처리 온도 조건으로 인해 리그닌의 고분자 구조가 더 넓은 온도 범위에서 고루 분해될 수 있는 구조로 변환하였기 때문으로 사료된다.

3.7. ILL 내 arylglycerol- β -aryl ether (β -O-4) 결합 빈도 분석

Arylglycerol- β -aryl ether 결합은 리그닌 내 결합의 45~60%를 차지하는 대표적인 결합양식 중 하나로 리그닌의 특성을 결정짓는 중요한 요소이다(Kishimoto *et al.* 2006). 전처리에 사용된 이온성 액체 종류와 처리온도가 ILL 내 arylglycerol- β -aryl ether 결합 빈도에 미치는 영향을 확인하기 위하여 NBO법을 이용하여 분석을 진행하였으며 이 결과를 Table 6에 제시하였다.

전반적으로 전처리 온도가 증가함에 따라 NBO 산물의 총량이 감소함을 볼 수 있는데 [Emim][OAc]의 경우 2315 $\mu\text{mol/g}$ 에서 590.6 $\mu\text{mol/g}$ 로, [Bmim][OAc]의 경우 1935.8 $\mu\text{mol/g}$ 에서 246.8 $\mu\text{mol/g}$ 로 감소하였다. 이는 높은 온도에서 전처리가 진행될수록 ILL 내의 β -O-4 결합 빈도가 감소함을 의미하며, 이를 통해 전처리가 높은 온도에서 일어날수록 ILL 내 ether 결합이 더 많이 분해되어 C-C결합 빈도가 높아져 더욱 응집된 구조를 갖는다는 것을 확인하였다. 한편 110 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 전처리를 진행한 경우 다른 온도와 비교하였을 때 S/G 비율이 1.1~1.2로 더욱 높게 나타났으며 이는 전처리 조건에 따라 리그닌 유래 산물의 선택적 추출이 가능할 수 있음을 나타낸다. 한편 130 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 얻은 ILL의 NBO 산물의 양이 다른 조건에 비해 상대적으로 적게 회수되었으며 이는 앞서 언급한 바와 같이 ILL 내에 리그닌 뿐만 아니라 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스 등이 동존하기 때문으로 사료된다.

4. 결 론

이온성 액체의 종류 및 반응 온도가 바이오매스 전처리 특성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 [Emim][OAc]와 [Bmim][OAc] 2종류의 이온성 액체를 사용하여 90℃, 110℃, 130℃ 조건에서 전처리를 진행하였으며, 이를 통해 얻은 두 산물의 분석을 시행하였다. CP와 ILL의 원소분석 결과 CP는 41.2~46.8%로 일반 바이오매스와 비슷한 수준의 탄소함량을 보이는데 비해 ILL은 58.9~65.2%로 더 높은 탄소함량을 나타냈으며, 산소함량은 CP가 ILL보다 높은 것으로 나타났다. CP의 경우 전처리 온도가 높아질수록 수율이 감소하는 경향을 보였으며, ILL의 경우 처리온도가 높아질수록 수율이 증가하였다. 효소를 통한 CP의 당화결과 110℃에서 [Emim][OAc]로 처리하여 얻어낸 CP의 글루코오스 수율이 56.7%로 가장 높은 것으로 나타났다. ILL의 열 중량 분석 결과 전처리 온도가 높아질수록 최대분해율이 감소하는 경향을 나타내었다. β -O-4 결합빈도 측정결과 처리온도가 증가할수록 ILL 내 β -O-4 결합빈도가 감소하였으며 110℃에서 얻은 ILL의 S/G ratio가 비교적 높게 나온 것을 확인하였다.

사 사

이 논문은 산림청 임업기술연구개발사업(과제번호 S111313L010110)와 한국생명공학연구원의 융합실용화사업 지원을 받아 수행되었습니다.

REFERENCES

- Arseneau, D.F. 1971. Competitive reactions in the thermal decomposition of cellulose. *Canadian Journal of Chemistry* 49(4): 632-638.
- Fu, D., Mazza, G. 2011. Aqueous ionic liquid pretreatment of straw. *Bioresource Technology* 102(13): 7008-7011.
- Hall, M., Bansal, P., Lee, J.H., Realf, M.J., Bommarius, A.S. 2010. Cellulose crystallinity: a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *FEBS Journal* 277(6): 1571-1582.
- Kim, J.Y., Kim, T.S., Hwang, H., Oh, S., Choi, J.W. 2012. Chemical · structural characterization of lignin extracted from pitch pine with ionic liquid (1-ethyl-3-methylimidazolium acetate). *Journal of Korean Wood Science and Technology* 40(3): 194-203.
- Kishimoto, T., Uraki, Y., Ubukata, M. 2006. Chemical synthesis of β -O-4 type artificial lignin. *Organic & Biomolecular Chemistry* 4(7): 1343-1347.
- Lee, Y., Eum, P.R.B., Ryu, C., Park, Y.K., Jung, J.H., Hyun, S. 2013. Characteristics of biochar produced from slow pyrolysis of Geodae-Uksae 1. *Bioresource Technology* 130: 345-350.
- Leopold, B., Malmström, L. 1951. Nitrobenzene oxidation of the products formed by the condensation of resorcinol with lignin models. *Acta Chemica Scandinavica* 5: 1393-1421.
- Li, C., Cheng, G., Balan, V., Kent, M.S., Ong, M., Chundawat, S.P., Melnichenko, Y.B., Dale, B.E., Simmons, B.A., Singh, S. 2011. Influence of physico-chemical changes on enzymatic digestibility of ionic liquid and AFEX pretreated corn stover. *Bioresource Technology* 102(13): 6928-6936.
- Li, C., Knierim, B., Manisseri, C., Arora, R., Scheller, H.V., Auer, M., Vogel, K.P., Simmons, B. A., Singh, S. 2010. Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification. *Bioresource Technology* 101(13): 4900-4906.
- Mäki-Arvela, P., Anugwom, I., Virtanen, P., Sjöholm, R., Mikkola, J.P. 2010. Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquid: a review. *Industrial Crops and Products* 32(3): 175-201.

