

목질계 셀룰로오스 에탄올 생산공정에서 전처리과정의 설계

김형진 · 이승범^{*,†}

김포대학교 융합환경과, *단국대학교 화학공학과
(2015년 6월 10일 접수, 2015년 6월 26일 심사, 2015년 7월 1일 채택)

Design of Pretreatment Process in Cellulosic Ethanol Production

Hyungjin Kim and Seung Bum Lee^{*,†}

Department of Convergence Environmental Engineering., Kimpo University, Gyeonggi 415-761, Korea

*Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 448-701, Korea

(Received June 10, 2015; Revised June 26, 2015; Accepted July 1, 2015)

초 록

차세대 바이오에탄올로 주목받고 있는 목질계 바이오매스를 이용한 셀룰로오스 에탄올 생산과정은 셀룰로오스를 단당류로 분해하는 전처리과정이 가장 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 산가수분해와 효소당화과정을 이용하여 볏짚, 톱밥, 복사지, 신문지 등과 같은 목질계 바이오매스로부터 셀룰로오스에탄올을 제조하였다. 전처리과정으로 10~30 wt% 황산을 이용한 산가수분해(100 °C, 1 h), celluclast (55 °C, pH = 5.0), AMG (60 °C, pH = 4.5), spirizyme (60 °C, pH = 4.2)을 이용한 효소당화과정(30 min), 산가수분해 후 효소당화과정을 비교하였다. 전처리과정의 수율은 hybrid 과정 > 산가수분해 > 효소당화 순으로 셀룰로오스 에탄올로의 전환이 잘 이루어지는 것으로 나타났으며, 최적 발효시간은 2일이었다. 또한 20 wt% 황산을 이용한 산가수분해 후 celluclast를 이용하여 효소당화를 수행할 경우 톱밥 > 볏짚 > 복사지 > 신문지 순으로 셀룰로오스 에탄올 전환특성이 높게 나타났다.

Abstract

A pretreatment process of cellulose decomposition to a monosaccharide plays an important role in the cellulosic ethanol production using the lignocellulosic biomass. In this study, a cellulosic ethanol was produced by using acidic hydrolysis and enzymatic saccharification process from the lignocellulosic biomass such as rice straw, sawdust, copying paper and newspaper. Three different pretreatment processes were compared; the acidic hydrolysis (100 °C, 1 h) using 10~30 wt% of sulfuric acid, the enzymatic saccharification (30 min) using celluclast (55 °C, pH = 5.0), AMG (60 °C, pH = 4.5), and spirizyme (60 °C, pH = 4.2) and also the hybrid process (enzymatic saccharification after acidic hydrolysis). The yield of cellulosic ethanol conversion with those pretreatment processes were obtained as the following order : hybrid process > acidic hydrolysis > enzymatic saccharification. The optimum fermentation time was proven to be two days in this work. The yield of cellulosic ethanol conversion using celluclast after the acidic hydrolysis with 20 wt% sulfuric acid were obtained as the following order : sawdust > rice straw > copying paper > newspaper when conducting enzymatic saccharification.

Keywords: cellulosic ethanol, lignocellulosic biomass, acidic hydrolysis, enzymatic saccharification, fermentation

1. 서 론

기후변화와 지구온난화에 따라 이산화탄소 배출량을 감소시키기 위해 석유를 대체할 재정이 가능한 바이오에너지 생산이 전 세계적으로 주목받고 있다[1]. 우리나라 또한 저탄소 녹색성장이라는 국가정책을 펴고 있어 신재생에너지 개발 관련 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 수송용 바이오연료로서 휘발유에 대체가능한 신재생 연료의 필요성이 크게 높아지고 있다[2]. 휘발유 대체가능 신재생연료로는

바이오에탄올이 있으며, 바이오에탄올의 경우 현재 기술로 가장 쉽게 생산할 수 있으며, 석유보다 깨끗이 연소되어 환경오염이 적으며, 만일 환경에 다시 누출되었을 경우에는 쉽게 미생물에 의해 분해된다는 장점을 가지고 있다[3-7]. 바이오 에탄올은 현재 미국과 브라질을 중심으로 옥수수수와 사탕수수수를 이용하여 생산되고 있으나[8-11], 이는 식량으로 사용된다는 점에서 지속적인 공급과 식량자원의 무기화 등의 문제가 있다. 따라서 식량자원이 아니면서 농업 및 산림경영에서 얻어지는 부산물이 많아 지속적인 공급이 가능한 목질계 바이오에탄올에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한 2008년 미국의 EERE (energy efficiency & renewable energy) 보고에 의하면 옥수수원료 에탄올은 에탄올 생산과정에서 소모된 에너지의 1.3~1.7배의 에너지를 생산하는 데 비해 목질계 에탄올의 경우 에탄올 생산에 소요된 에너지의 4.4~6.1배의 에너지 생산이 가능하다. 목질계 원료는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌의 세 가지 성분으로 구성되어 있으며

† Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 448-701, Korea
Tel: +82-31-8005-3559 e-mail: leesb@dankook.ac.kr

지구상에 존재하는 가장 풍부한 탄소원임과 동시에 biorefinery 공정에 의해 유용한 물질의 원료로 사용될 수 있다[12]. 셀룰로오스는 글루코오스가 수소결합 및 van der Waals 힘에 의해 규칙적으로 결합된 고분자 화합물이며, 헤미셀룰로오스는 arabinose 등의 5탄당이 β -1,4 형태로 결합되어 셀룰로오스와 리그닌의 접착제 역할을 수행하며, 리그닌은 phenylpropane unit를 갖는 방향족 물질이 불규칙적으로 연결된 불용성 난분해성 고분자 화합물로 다당류의 분해를 막는다. 리그닌은 목질계에서 화학적으로 셀룰로오스와 결합되어 있으며 물리적으로 셀룰라아제의 흡착면을 저감시키면서 셀룰로오스의 생화학적 분해에 대한 방어막 역할을 수행한다[13]. 이러한 이유로 목질계 셀룰로오스 에탄올 생산과정에서 리그닌을 제거하고 셀룰로오스를 다당류로 분해하는 전처리과정이 필요하며, 최적 전처리과정을 찾는 것은 생산 수율, 농도, 당화 및 발효 속도, 셀룰로오스 결정도 등에 영향을 미치기 때문에 경제적 관점에서 매우 중요하다[14,15]. 따라서 본 연구에서는 볏짚, 톱밥, 복사지, 신문지 등과 같은 목질계 원료를 이용한 셀룰로오스 에탄올을 생산하기 위해 다양한 전처리과정(황산을 이용한 산가수분해, 효소당화, 산가수분해 후 효소당화)을 이용하여 셀룰로오스 에탄올을 제조하여 최적의 셀룰로오스 에탄올 전처리과정을 제시하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 셀룰로오스 에탄올의 제조

셀룰로오스 에탄올 원료인 목질계로는 볏짚, 톱밥, 복사지, 신문지 등을 이용하였다. 목질계 원료는 진공오븐을 이용하여 40 °C에서 건조한 후 14/18 mesh (1.00~1.16 mm)의 크기로 고르게 분쇄하여 실험에 이용하였다. 셀룰로오스 에탄올을 제조하기 위한 전처리과정으로는 산가수분해와 효소당화를 이용하였다. 산가수분해는 목질계 원료 10 g을 증류수 1 L에 수화시킨 후 10~30 wt%의 황산을 이용하여 100 °C의 온도에서 1 h 동안 교반시켜 진행하였다. 또한 효소당화과정에서는 celluloclast (55 °C, pH = 5.0), amyloglucosidase (AMG) (60 °C, pH = 4.5), spirizyme (60 °C, pH = 4.2)를 사용하였으며, 각 효소의 최적온도와 pH를 맞춘 후 목질계 원료 10 g을 증류수 1 L에 수화시킨 후 효소를 1 mL 주입하여 30 min간 진행하였다. 효소당화 과정 후 효소를 죽이기 위해 85 °C에서 20 min간 가열하였다. 전처리과정 후 중화과정을 거쳐 용액의 pH를 7.0으로 조절한 후 30 wt%의 yeast를 이용하여 30 °C의 온도에서 1~4일간 발효시켜 셀룰로오스 에탄올을 제조하였다.

2.2. 셀룰로오스 에탄올의 수율계산

셀룰로오스 에탄올의 수율계산을 위해 GC-FID를 이용하여 분석을 수행하였다. 실험에 사용된 컬럼은 길이 30 m, 내경 0.320 mm의 HP-5 컬럼을 이용하였으며, 60 °C에서 110 °C까지 승온하여 분석하였다. 시료주입부와 검출기의 온도는 200 °C로 유지하였다. 크로마토그램으로부터 측정된 peak의 면적을 이용하여 식 (1)과 같이 셀룰로오스 에탄올 수율(CE yield)을 계산하였다.

$$CE\ Yield = \frac{A_i}{A_{EtOH}} \times \frac{V_p}{X} \times 100(\%) \quad (1)$$

여기서 A_i 는 크로마토그램에서 셀룰로오스 에탄올의 peak 면적이며, A_{EtOH} 은 99.9% 에탄올의 peak 면적이다. V_p 는 셀룰로오스 에탄올의 부피(mL), ρ 는 에탄올의 밀도(g/mL), X 는 실험에 사용된 목질계 원료의 질량(10 g)이다.

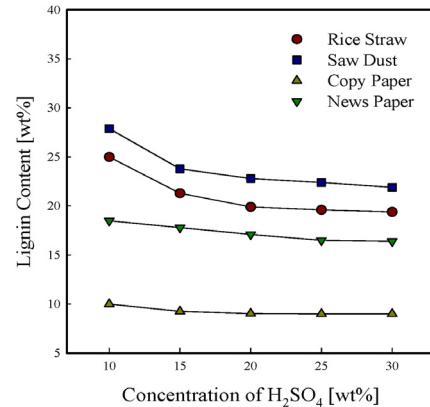


Figure 1. Lignin content of lignocellulosic biomass with H₂SO₄ concentration using acidic hydrolysis.

2.3. 리그닌함량 측정

리그닌 정량방법은 산당화수 볏짚시료 1 g을 분취하여 절대건조무게를 측정된 후 Soxhlet 추출기를 이용하여 알코올-벤젠 혼합용매로 6 h 동안 수지분을 추출하여 건조하였다. 건조된 탈지시료를 20 °C의 온도에서 황산을 조금씩 첨가하면서 교반한 후 가열하여 잔류물을 가라앉힌다. 이 잔류물의 무게를 이용하여 다음의 식으로부터 리그닌함량(L , wt%)을 계산하였다[16].

$$L = \frac{W}{S} \times 100(\%) \quad (2)$$

여기서, S 는 시료의 절대건조무게(g)이고, W 는 잔류물의 무게(g)이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 목질계 원료의 산가수분해

목질계 원료로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산하는 과정은 식물구조 내의 고분자물질들인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌의 효율적인 분리가 선행되어야 한다. 특히 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 파괴 없이 리그닌을 분해하여 함량을 줄이는 과정이 가장 이상적인 전처리과정이 될 수 있다. 산가수분해의 기본 목적은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 다당류를 가수분해하여 pentose와 hexose 등의 단당을 생성시키는 것으로 황산 희석법이 현재로는 가장 경제성이 높고 공정이 간단한 방법으로 거론되고 있다[17]. 따라서 본 연구에서는 목질계 원료의 산가수분해 과정에서 황산의 농도변화에 따른 리그닌 함량변화를 측정하여 Figure 1에 나타내었다. 목질계 원료 10 g을 증류수 1 L에 수화시킨 후 10~30 wt%의 황산을 이용하여 100 °C의 온도에서 1 h 동안 교반시킨 후 리그닌 함량을 측정하였다. 실험 결과 리그닌 함량은 톱밥 > 볏짚 > 신문지 > 복사지의 순서로 높게 나타났으며, 산가수분해 과정에서 황산의 농도가 증가함에 따라 리그닌 함량은 감소하는 경향을 나타내었다[16].

목질계 원료의 산가수분해 과정에서 황산의 농도에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율(CE yield) 변화를 알아보기 위해 황산의 농도를 10~30 wt%로 변량하여 Figure 2에 나타내었다. 산가수분해 과정 후 중화과정을 거쳐 용액의 pH를 7.0으로 조절한 후 30 wt%의 yeast를 이용하여 30 °C의 온도에서 2일간 발효시켜 셀룰로오스 에탄올을 제조하였다. 목질계 원료에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율은 볏짚 > 톱밥 > 복사지

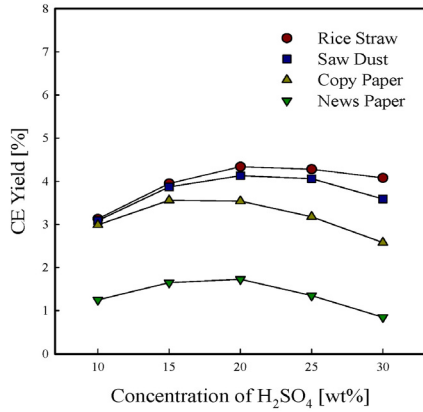


Figure 2. CE yield of cellulose ethanol with H₂SO₄ concentration using acidic hydrolysis.

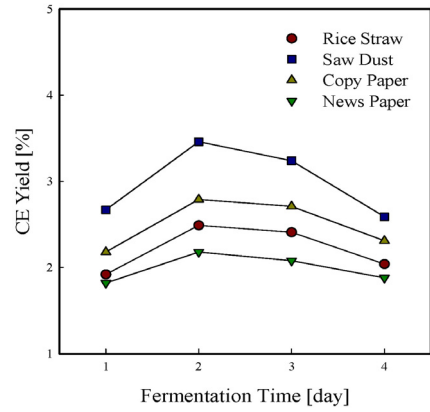


Figure 4. CE yield of cellulose ethanol with fermentation time using enzymatic saccharification.

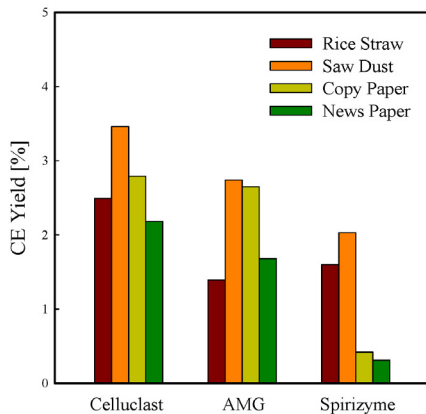


Figure 3. CE yield of cellulose ethanol using enzymatic saccharification.

> 신문의 순으로 높게 나타났다. 신문지나 복사지의 경우 벚짚이나 톱밥에 비해 리그닌 함량이 낮았으나 목질계 원료를 가공하여 사용한 후 셀룰로오스 에탄올을 생산할 경우 가공과정에서 다른 여러 화학물질들이 첨가되어 셀룰로오스 에탄올로의 전환을 방해하기 때문에 사료된다. 벚짚의 경우 황산의 농도가 증가함에 따라 셀룰로오스 에탄올 수율은 10 wt% (3.13%), 15 wt% (3.95%), 20 wt% (4.34%), 25 wt% (4.28%), 30 wt% (4.08%)로 나타났고, 톱밥의 경우에는 10 wt% (3.09%), 15 wt% (3.87%), 20 wt% (4.13%), 25 wt% (4.06%), 30 wt% (3.59%)로 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 황산의 농도가 20 wt%에서 30 wt%로 증가할 경우 리그닌의 함량은 크게 변하지 않고, 오히려 에탄올 수율에 영향을 미치는 셀룰로오스가 파괴되기 때문으로 사료된다[16]. 따라서 본 연구에서는 산가수분해 과정에서 최적 황산의 농도를 20 wt%로 설정하였다.

3.2. 목질계 원료의 효소당화

Figure 3에 목질계 원료의 효소당화 특성을 고찰하기 위해 효소의 종류에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율변화를 나타내었다. 실험에 사용된 효소로는 celluclast (55 °C, pH = 5.0), AMG (60 °C, pH = 4.5), spirizyme (60 °C, pH = 4.2)를 사용하였으며, 각 효소의 최적온도와 pH를 맞춘 후 목질계 원료 10 g을 증류수 1 L에 수화시킨 후 효소를 1 mL 주입하여 30 min 간 진행하였다. 효소변화에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율은 celluclast > AMG > spirizyme 순으로 효소당화 특성이 우수한 것을 알 수 있었으며, celluclast를 사용하여 효소당화 한 경우

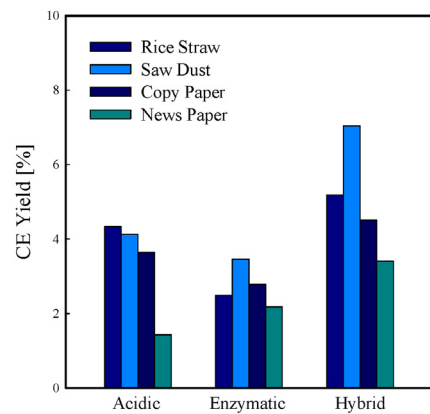


Figure 5. CE yield of cellulose ethanol using various pretreatment process.

목질계 원료의 변화에 따라 톱밥(3.46%) > 복사지(2.79%) > 벚짚(2.49%) > 신문지(2.18%)의 순으로 수율이 높게 나타났다. 하지만 산가수분해 과정에 비해 낮은 셀룰로오스 에탄올 수율을 나타내어 산당화과정만으로는 높은 수율의 셀룰로오스 에탄올을 생산하지 못할 것으로 사료된다.

산당화과정 후 발효시간에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율변화를 알아보기 위해 발효시간을 1~4일로 변화시켜 실험을 수행하였다. Figure 4는 발효시간에 따른 목질계 원료의 셀룰로오스 에탄올 수율 변화를 나타낸 그림이다. 효소당화 과정 후 효소를 죽이기 위해 85 °C에서 20 min 간 가열한 후 30 wt%의 yeast를 이용하여 30 °C의 온도에서 1~4일간 발효시켜 셀룰로오스 에탄올을 제조하였다. 실험 결과 발효시간이 2일 이후에는 오히려 셀룰로오스 에탄올 수율이 감소하였는데 이는 생산된 셀룰로오스 에탄올이 산화반응으로 인해 아세트알데히드나 아세트산으로 전환되기 때문으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 최적 발효시간을 2일로 설정하였다.

3.3. 셀룰로오스 에탄올 제조과정의 최적화

본 연구에서는 목질계 원료로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산하는 과정에서 전처리과정으로 이용되는 산가수분해와 효소당화과정을 연계시켜 최적 생산공정을 설계하고자 하였다. 산가수분해의 경우 황산의 농도를 20 wt%로 하여 100 °C의 온도에서 1 h 동안 반응시켰으며, 효소당화과정의 경우 효소로 1 mL의 celluclast를 사용하였으며, 55

°C의 온도에서 pH = 5.0로 pH를 맞춘 후 30 min간 반응을 진행하였다. 또한 이 두 과정을 혼합한 hybrid 과정의 경우 산가수분해 후 증화 과정을 거치고 celluclast를 이용하여 산당화과정을 진행하였다. Figure 5는 각 전처리과정에서 최대 셀룰로오스 에탄올 수율을 나타낸 그림이다. 전처리과정에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율변화는 hybrid 과정 > 산가수분해 > 효소당화 순으로 높게 나타났다. Hybrid 과정에서 목질계 원료에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율은 톱밥(7.04%) > 벚짚(5.18%) > 복사지(4.51%) > 신문지(3.41%)의 순으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 셀룰로오스 에탄올 생산공정에서 이용되는 전처리과정인 산가수분해와 효소당화과정을 연속적으로 수행함으로써 최적의 셀룰로오스 에탄올 생산공정을 설계할 수 있었다.

4. 결 론

벚짚, 톱밥, 복사지, 신문지 등과 같은 목질계 원료를 이용한 셀룰로오스 에탄올을 생산하기 위해 다양한 전처리과정(황산을 이용한 산가수분해, 효소당화, 산가수분해 후 효소당화)을 이용하여 셀룰로오스 에탄올을 제조한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 리그닌 함량 측정 결과 톱밥, 벚짚, 신문지, 복사지의 순서로 높게 나타났으며, 산가수분해 과정에서 황산의 농도가 증가함에 따라 리그닌 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

2. 전처리과정으로 산가수분해를 이용했을 경우 셀룰로오스 에탄올 수율은 벚짚, 톱밥, 복사지, 신문지의 순으로 높게 나타났다. 벚짚과 톱밥의 경우 황산의 농도가 증가함에 따라 셀룰로오스 에탄올 수율은 증가하다 감소하는 경향을 나타내었으며, 산가수분해 과정에서 최적 황산의 농도는 20 wt%로 나타났다.

3. 효소변화에 따른 셀룰로오스 에탄올 수율은 celluclast, AMG, spirizyme 순으로 높았으며, celluclast를 사용하여 효소당화한 경우 톱밥, 복사지, 벚짚, 신문지 순으로 수율이 높게 나타났다. 이때 발효시간은 2일이 최적시간임을 확인하였다.

4. 셀룰로오스 에탄올 수율은 hybrid 과정, 산가수분해, 효소당화 순으로 높게 나타났으며, 전처리 방법으로 hybrid 과정을 이용할 경우 수율은 톱밥, 벚짚, 복사지, 신문지 순으로 나타났다.

따라서 셀룰로오스 에탄올 생산공정에서 이용되는 전처리과정인 산가수분해와 효소당화과정을 연속적으로 수행함으로써 최적의 셀룰로오스 에탄올 생산이 가능함을 확인하였다.

감 사

이 논문은 2015학년도 김포대학교의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

References

1. K. E. Lee, J. Y. Lee, and K. Kim, Effect of content of crop component on the bioethanol production, *Korean J. Crop Sci.*, **53**(3), 339-346 (2008).
2. Y.-S. Kim, Development and utilization trend of biofuel from lignocellulosic biomass, *Forest Bioenergy*, **27**(1), 1-10 (2008).
3. T. Y. Chang, R. H. Hammerle, S. M. Japar, and I. T. Salmeen, Alternative transportation fuels and air quality, *Environ. Sci. & Tech.*, **25**(7), 1190-1197 (1996).
4. F. H. Palmer, Vehicle performance of gasoline containing oxygenates, Institution of Mechanical Engineers Conference Publication, 33-46, MEP, London, U.K. (1986).
5. I. K. Hong, H. Jeon, and S. B. Lee, Comparison of red, brown and green seaweeds on enzymatic saccharification process, *J. Ind. Eng. Chem.*, **20**(5), 2687-2691 (2014).
6. S. B. Lee, S.-K. Jung, and J. D. Lee, Production of rice straw based cellulosic ethanol using acidic saccharification, *Appl. Chem. Eng.*, **21**(3), 349-352 (2010).
7. S. B. Lee and H. Kim, The effect of acid hydrolysis and enzymatic saccharification in bioethanol production process using fruit peels, *Appl. Chem. Eng.*, **25**(6), 619-623 (2014).
8. A. Hirano, R. Ueda, S. Hirayama, and Y. Ogushi, CO₂ fixation and ethanol production with microalgal photosynthesis and intracellular fermentation, *Energy*, **22**, 137-142 (1997).
9. B. C. Saha and M. A. Cotta, Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol, *Enzyme Microb. Technol.*, **41**(4), 528-532 (2007).
10. B. Hahn-Hägerdal, M. Galbe, M. F. Gorwa-Grauslund, G. Liden, and G. Zacchi, Bio-ethanol - the fuel of tomorrow from the residues of today, *Trends Biotechnol.*, **24**(12), 549-556 (2006).
11. H.-J. Han and S.-J. Kim, Isolation and characterization of a strain for economical ethanol production, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**(4), 267-272 (2006).
12. J.-J. Ko, S.-L. Yun, S.-W. Kang, and S.-K. Kim, A review on thermochemical pretreatment in lignocellulosic bioethanol production, *J. of KORRA*, **16**(1), 79-88 (2008).
13. P. J. Colberg, Anaerobic microbial degradation of cellulose, lignin, liliolignols, and monoaromatic ligning derivarives: Zehnder A.J.B.(ed.) *Biology of anaerobic microorganism*, 333-415, John Wiley & Sons, NewYork (1988).
14. C. E. Wyman, B. E. Dale, R. T. Elander, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee, Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies, *Bioresour. Technol.*, **96**, 1959-1966 (2005).
15. V. S. Chang and M. T. Holtzapple, Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **84**, 5-37 (2000).
16. Y. N. Lee, S. B. Lee, and J. D. Lee, Characteristics of lignin removal in cellulosic ethanol production process, *Appl. Chem. Eng.*, **22**(1), 77-80 (2011).