

## 발효당 생산을 위한 목질계 바이오매스의 2단 산당화

박장한 · 김준석<sup>†</sup>

경기대학교 화학공학과  
16227 경기도 수원시 영통구 광교산로 154-42  
(2015년 5월 22일 접수, 2015년 6월 9일 수정본 접수, 2015년 6월 24일 채택)

### Two-step Acid Hydrolysis Method for Producing Fermentable Sugar from Lignocellulosic Biomass

Jang Han Park and Jun Seok Kim<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kyonggi University, 154-42, Gwanggyosan-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi, 16227, Korea  
(Received 22 May 2015; Received in revised form 9 June 2015; accepted 24 June 2015)

#### 요 약

목질계 바이오매스를 이용하여 효소를 사용하지 않고 발효당을 얻기 위해 황산을 이용한 당화를 수행하였다. 바이오매스로는 *pinus rigida*와 palm농업 부산물인 EFB를 사용하였다. 산을 이용한 당화에서는 당의 과분해 생성물을 줄이기 위한 당화조건을 생각해 보아야 한다. 따라서 본 연구에서는 목질계 바이오매스를 이용한 2단 산당화를 수행하였다. 산을 이용한 1차 가수분해에서는 72 wt%의 황산을 이용하여 80 °C에서 반응시켰을 경우 가장 높은 당화율을 보였고 *pinus rigida*와 EFB 각각 11.49 wt%, 32 wt%의 당화율을 보였다. 이후 1차 가수분해에서 얻은 액상을 9~15 wt%의 산농도가 되도록 묽혀 50~120 °C의 온도로 2차 가수분해를 진행했다. 2차 가수분해시 9%의 황산농도와 120 °C의 온도조건에서 80분간 반응시켰을 때 최종 글루코오스 당화율은 *pinus rigida*의 경우 86.8 wt% (39 g/L), EFB의 경우 95.3 wt%(32.4 g/L)를 얻을 수 있었다. 각 단계에서 분석된 결과는 물질수지를 통해 확인하고 당화 효율을 비교해 보았다.

**Abstract** – For obtain fermentable sugar, we conducted acid hydrolysis with lignocellulosic biomass without enzyme. The lignocellulosic biomass used *pinus rigida* and Palm residues (EFB; empty fruit bunches). In the acid hydrolysis, we consider the hydrolysis condition to reduce a denatured sugar. So this study was conducted 2-step acid hydrolysis. First-step hydrolysis used high concentration (72 wt%) sulfuric acid at 80 °C. At the condition, we obtained 11.49 wt%, 32 wt% glucose conversion for *pinus rigida* and EFB. After the step, the liquor was dilute until 9~15 wt% acid concentration and conducted second hydrolysis at 50~120 °C. In the second hydrolysis, we obtained maximum glucose conversion (*pinus rigida* 86.8 wt% (39 g/L) and EFB 95.3 wt% (32.4 g/L)) at 9 wt% acid concentration and 120 °C for 80 min. All samples through the process are analyzed on the basis of mass balance.

Key words: Lignocellulosic Biomass, Acid Hydrolysis, Two-step Pretreatment, Fermentable Sugar

#### 1. 서 론

최근 Policy Energy Act (PEA)에 의해 Energy Independence and Security Act (EISA)로 향후 2022년까지 바이오 에탄올을 360억 gal 까지 생산하는 것을 목표로 하고 있다. 화석연료의 고갈과 온실가스 방출의 제한은 당, 전분, 목질계 바이오매스 같은 새로운 재생에너지 자원에 대한 관심을 증가시켰다[1]. 바이오매스 자원으로 생성된 에탄올로 화석연료를 대체한다면 이는 온실가스 배출량을 86%까지 감소시킬 수 있다고 알려져 있다[2]. 이는 자연스럽게 탄화수소 에너

지원으로 알려진 목질계 바이오매스로부터 발효당을 얻기 위한 공정을 개발하는데 관심을 집중시키고 있다[3]. 바이오매스는 크게 1세대부터 3세대까지 분류된다. 1세대 바이오매스는 식용작물로 오늘날 가장 상업화된 바이오 에너지를 만드는 원료로 사용되지만, 최근 식용작물을 사용하는데 세계 식량문제와 대조되면서 경제적, 환경적 문제에 직면하게 되었다[4]. 따라서 1세대 바이오매스인 식용작물을 대체하여 바이오 에너지를 생산하기 위해 2세대 바이오매스인 목질계 바이오매스가 새로운 원료로 주목 받고 있다[5].

목질계 바이오매스는 지구상에 자연적으로 가장 풍부한 유기물이다. 목질계 바이오매스는 매년 100~500 억 톤이 생산되며 이는 지구상에서 해마다 발생하는 바이오매스의 절반에 해당한다[6]. 하지만 발생량의 대부분은 소각 또는 매립이 되고 있는 실정이며, 일부만이 퇴비 및 펠렛으로 이용되고 있다[7]. 목질계 바이오매스는 셀룰

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jskim84@kyonggi.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

로오스, 헤미셀룰로오스 그리고 리그닌의 복합체로 1세대 바이오매스보다 더 복잡한 구조를 가진다[8]. 따라서 목질계 바이오매스를 활용한 바이오 에탄올 생산에 있어서 리그닌을 제거하고 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 결정성을 낮추는데 추가적인 공정이 필요하며, 이는 생산비용의 상승으로 이어진다. 따라서 1세대 바이오매스에 비해 경제성이 떨어지는 문제는 아직 해결해야 할 과제이다[9].

목질계 바이오매스를 이용하여 발효당을 생산하는 공정의 비용은 현재 기술력에 매우 의존한다. 또한 낮은 당 수율 역시 해결해야 할 문제이다[10]. 대표적인 당화방법으로는 산처리법, 알카리법, 효소법 등이 있다. 산에 의한 당화공정의 경우, 사용하는 산의 농도에 따라 강산 당화나 묽은 산 당화방법으로 나눌 수 있다. 강산 당화방법은 상온, 상압에서 당화가 가능하고, 90% 정도의 높은 당화수율, 그리고 짧은 반응시간이 장점이지만, 사용한 산을 회수하여야 하고 강산에 의한 부식을 견딜 수 있는 고가의 장치를 사용해야 하는 문제점이 있다. 약산당화의 경우 고온, 고압 하에서 반응이 이루어지므로 에너지 소비가 클 뿐만 아니라, 과도한 분해로 인해 당의 과분해 산물인 furfural과 HMF (Hydromethylfurfural) 등이 발생되어 발효 수율을 저하시킬 우려가 있다. 효소당화의 경우 반응온도가 낮고 폐기물이 거의 나오지 않아 친환경적이고 낮은 에너지가 필요하다는 장점이 있지만, 아직 효소의 가격이 비싸고 반응시간이 길다는 단점이 있다[11].

일반적으로 산처리는 헤미셀룰로오스의 구성요소를 효과적으로 당화시킬 수 있고, 적절한 산 농도와 온도, 시간을 설정한다면 높은 당 수율을 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다[12].

## 2. 실험방법

### 2-1. 재료

본 연구에 사용된 바이오매스는 목질계(lignocellulosic)인 *pinus rigida*와 palm residue (Empty Fruit Bunches) 2가지를 사용하였다. 각 바이오매스는 30~50 mesh의 균일한 크기의 기질을 사용하였고 분쇄 후에 45°C 오븐에서 건조하였다. 바이오매스의 성분분석을 위한 기질의 비교군으로 여과지(whatman No.1, Cat No : 1001-150, GE Healthcare co., UK)와  $\alpha$ -셀룰로오스( $\alpha$ -cellulose, CAS No : 9004-34-6, Sigma-Aldrich co., USA)를 사용하였고 모든 기질은 분쇄하여 균일한 크기를 가진 기질을 이용하였다.

### 2-2. 분석방법

#### 2-2-1. 목질계 바이오매스를 이용한 2단 산당화

각각의 바이오매스는 황산을 이용하여 산당화를 수행하였다. 1차 산당화를 위해 바이오매스를 orange cap vial에 황산(72 wt%)을 이용하여 1:10의 고-액비로 혼합하고, 충분히 wetting을 시켜준 후 water bath를 이용하여 3~15분동안 30~80°C에서 1차 가수분해를 진행하였다. 이후 남아있는 고상과 액상을 분리하여 액상은 증류수를 이용해 9~15 wt%로 희석 후 80~120°C에서 2차 가수분해를 진행하였다.

1차 가수분해 후 걸러진 고체상은 증류수를 이용하여 충분히 세척하고 45°C 오븐에서 48시간 동안 건조하였다. 각 단계에서 나온 액상은 HPLC (Waters co., USA)를 이용하여 글루코오스의 정량을 분석하였다. 건조된 고체상은 산처리 전후 바이오매스의 성분변화 분석을 위해 성분분석을 수행하였다.

### 2-2-2. HPLC analysis

시료의 성분분석과 당화액의 분석은 HPLC (Waters, USA)를 사용하였다. 분석에 사용된 column은 Biorad사의 Aminex HPX-87을 사용하였고, detector는 Waters 410 RI (Refractive Index)를 사용하였다. RI 검출기의 온도와 column의 온도는 각각 50°C, 60°C로 설정되었다.

### 2-2-3. 산처리 전후 바이오매스의 성분변화 분석

바이오매스의 성분은 미국 신재생 에너지 연구소(National Renewable Energy Laboratory)에서 제시한 NREL procedures LAP-002에 제시된 방법으로 성분을 분석하였다. 샘플을 황산(72 wt%)에 넣고 30°C에서 2시간 동안 1차 산 가수분해를 시킨 뒤에 희석한 후 1시간동안 121°C에서 2차 가수분해를 하였다. 가수분해 후 얻은 액상을 HPLC (waters, USA)를 이용하여 각 성분에 대한 정량을 하였다[13].

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 산처리 전후 바이오매스의 성분변화

실험에 사용된 바이오매스는 *pinus rigida*, palm residue (EFB)를 사용하였고 바이오매스의 비교군으로 여과지(filterpaper, whatman No.1)를 사용하였다. 산처리 전후 시료는 미국 신재생 에너지 연구소(NREL)의 분석법에 의해 분석하였으며 데이터는 Fig. 1에 나타내었다. 산처리 전후 바이오매스의 성분변화를 알아보기 위해 처리 전 바이오매스의 성분을 분석하고, 1차 가수분해 이후 여과된 고체상을 45°C 오븐에서 건조시켜 같은 방법으로 성분분석을 하였다. 각 시료의 글루코오스 함량은 *pinus rigida*의 경우 44.9%, EFB는 34%로 나왔고, 80°C에서 10분간 1차 가수분해 후 각 시료의 글루코오스 함량은 5.04%, 2.98%로 글루코오스 함유량이 크게 감소하여 대부분의 글루코오스가 액상으로 빠져나온 것을 알 수 있었다. 글루코오스 외에 XMG (Xylose, Mannose, Galactose)성분 역시 산처리 전후 크게 차이가 나는 것을 볼 수 있었다. *pinus rigida*의 경우 XMG는 25.8%에서 2.1%까지 감소하였고, EFB의 경우 25.3%에서 1.2%까지 감소한 것을 볼 수 있었다. 해당 결과로 보아 목질계 바이오매스의 치밀한 결정성 구조를 와해시키는 동시에 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 구조를 어느정도 깨는것에 그 목적을 가졌던 1차 가수분해는 본 실험조건에서 충분한 효과를 보인 것으로 생각 된다.

### 3-2. 온도와 시간에 따른 1차 가수분해 반응조건

1차 가수분해를 효율적으로 하기 위한 실험조건을 설정하는 과정을 수행하였다. 이 과정은 목질계 바이오매스인 EFB를 이용하여 시간과

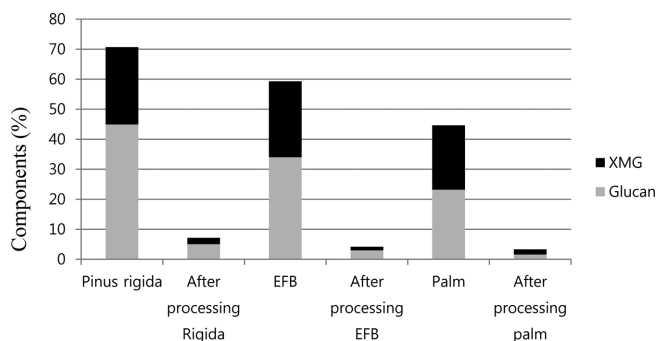


Fig. 1. Analysis of raw and acid processing materials (*pinus rigida*, Palm residue (EFB), Palm fronds).

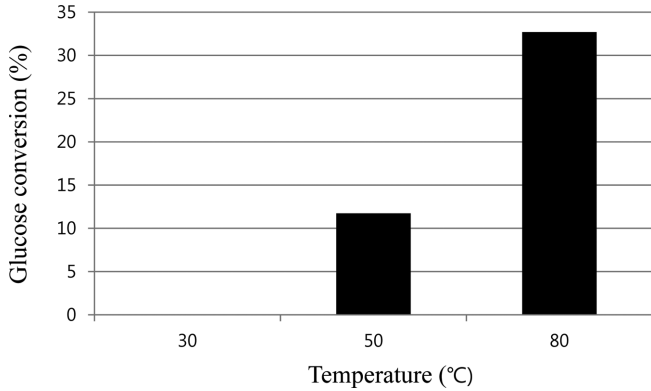


Fig. 2. Glucose conversion of the first hydrolysis for using EFB at 30~80 °C for 10 min with 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

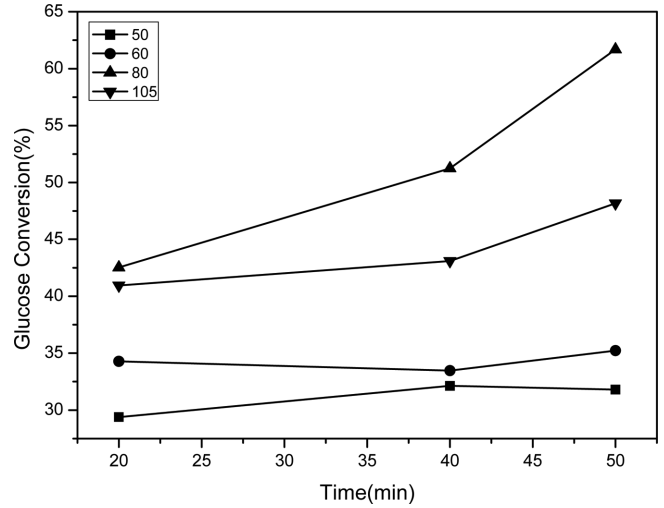


Fig. 4. Glucose conversion of the second hydrolysis using *pinus rigida* at 50~105 °C for 20~50 min with 15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

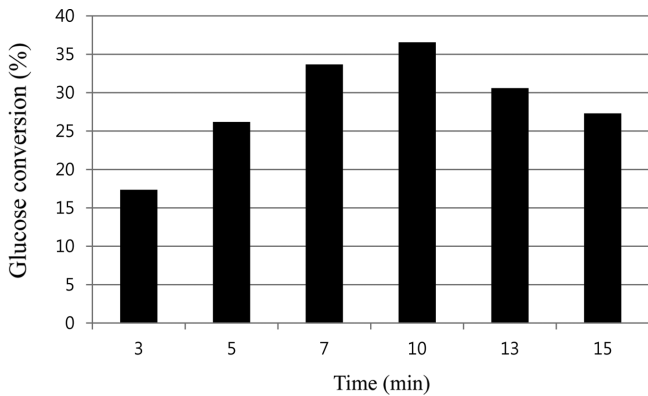


Fig. 3. Glucose conversion of the first hydrolysis using EFB at 80 °C for 3~15 min with 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

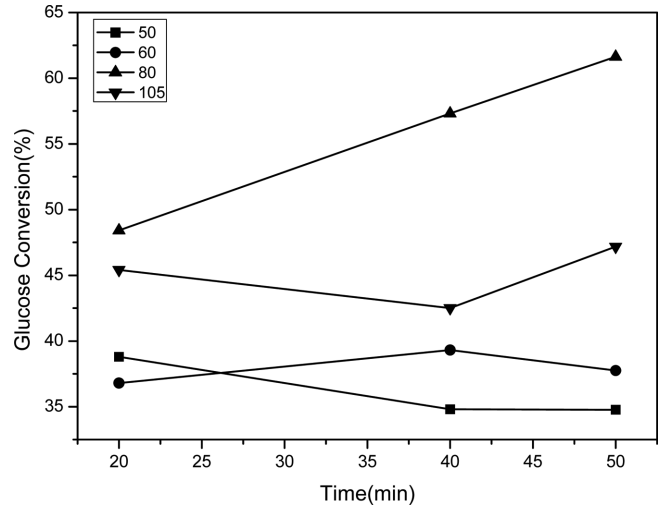


Fig. 5. Glucose conversion of the second hydrolysis using EFB at 50~105 °C for 20~50 min with 15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

온도별 글루코오스 전환율을 보았다. 온도에 따른 글루코오스 전환율은 Fig. 2에 나타내었다. 온도는 30, 50, 80 °C에서 10분동안 실험하였다. 해당 조건에서 목질계 바이오매스인 EFB의 글루코오스 전환율은 30°C의 경우 글루코오스가 전혀 발견되지 않았고 50°C에서 11.73%, 80 °C에서 32.7%로 나타났다. 이 결과를 참고하여 1차 가수분해의 온도조건은 80 °C로 설정했다.

1차 가수분해의 시간을 설정하기 위해 시간에 따른 당화율을 실험하였으며, 해당 값은 Fig. 3에 나타내었다. 시간은 5~15분 범위로 80 °C 온도에서 진행하였고, 그 결과 10분에서 36.5%로 가장 높은 당화율을 보였다. 10분이상 1차 가수분해를 진행하였을 경우 글루코오스의 당화율은 떨어지는 것을 볼 수 있다. 이는 글루코오스가 고농도의 산에서 해당 온도조건에 오래 반응시킬수록 과분해 생성물로 인해 당화율이 떨어지는 것으로 생각 할 수 있다. 따라서 1차 가수분해의 조건은 80 °C 온도에서 10분간 진행하도록 실험을 설계하였다.

3-3. 온도와 시간에 따른 2차 가수분해 반응조건

2차 가수분해를 효율적으로 하기위해 온도와 시간에 따른 실험조건은 알아보았다. 1차 가수분해로 나온 액상을 증류수를 이용하여 각각 9, 15 wt%로 희석한 액상을 샘플로 하여 2차 가수분해를 진행하였다. 온도조건은 50~120 °C에서 진행하였고, 반응시간은 20분부터 50분까지 설정하였다. 해당 조건하에 2차 가수분해 글루코오스 전환율은 Fig. 4~7에 나타내었다. 먼저 Fig. 4, 5를 보면 15%의 산농

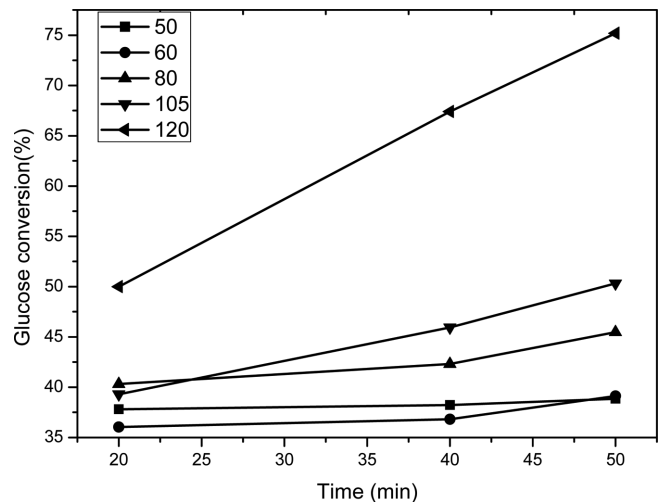


Fig. 6. Glucose conversion of the second hydrolysis using *pinus rigida* at 50~120 °C for 20~50 min with 9% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

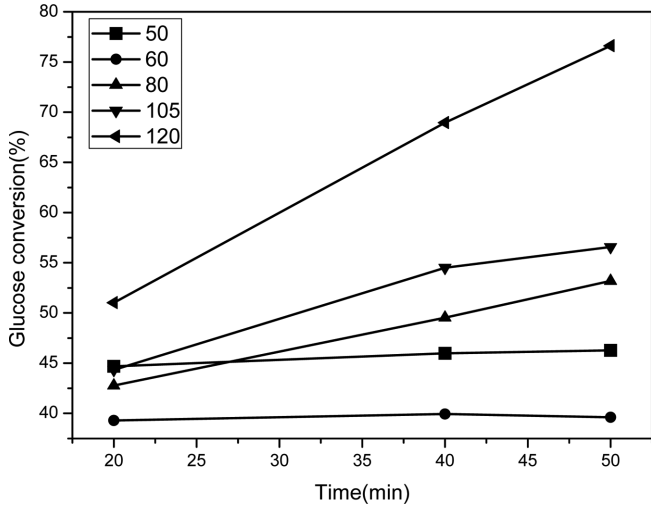


Fig. 7. Glucose conversion of the second hydrolysis using EFB at 50~105 °C for 20~50 min with 15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

도로 80 °C에서 액상을 2차 가수분해 하였을 경우 최대 글루코오스 전환율은 *Pinus rigida*와 EFB 각각 61.69%, 61.63%로 나타났다. 하지만 80 °C 보다 더 높은 온도에서 2차 가수분해를 진행할 경우 당화율은 더 떨어지는 것을 볼 수 있었다. Fig. 6, 7을 보면 1차 가수분해로 나온 액상을 9%의 산농도로 묽혀 해당 온도에서 실험한 결과를 볼 수 있다. 9%의 경우 온도가 증가하고 시간이 지날수록 당화율은 높아지는 것을 알 수 있고 여기서 최대 당화율은 120 °C 온도조건 하에 50분간 반응시켰을 때 *pinus rigida*, EFB 각각 75.2%, 76.4%로 나왔으며 15%의 당화조건보다 더 높은 당화율을 보였다. 이 결과를 바탕으로 1차 가수분해는 80 °C에서 10분, 2차 가수분해는 120 °C에서 60분으로 각 목질계 바이오매스의 글루코오스 당화율을 물질수지를 통해 알아보았다.

3-4. 목질계 바이오매스의 2단 산당화 물질수지

목질계 바이오매스인 *pinus rigida*와 EFB를 이용하여 2단 산당화를 수행하였고 얻은 결과값들을 물질수지를 통해 Fig. 8에 나타내었다. *Pinus rigida*와 EFB의 글루코오스 함량은 각각 44.9 g/100 g, 34 g/100 g으로 나왔고, 이는 바이오매스의 성분분석을 통해 나왔다. 1차 가수분해후 나온 액상에서 *pinus rigida*는 글루코오스

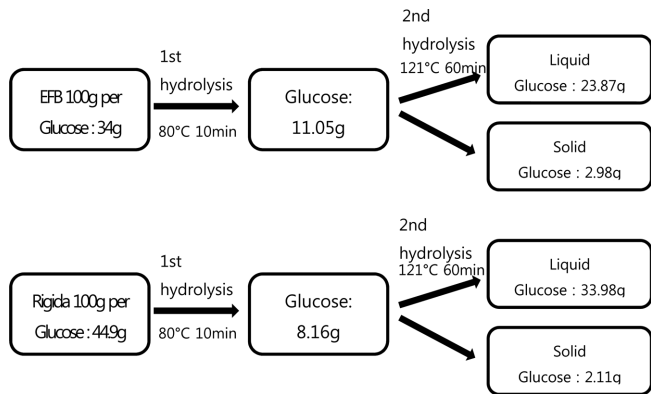


Fig. 8. Overall mass balances for 2step acid hydrolysis.

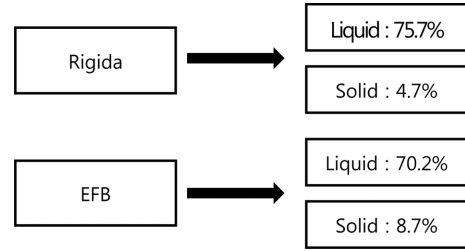


Fig. 9. Glucose conversion to liquid and solid phase.

8.16 g으로 전체 글루코오스 함량 중 18%가 전환됨을 알 수 있었다. EFB는 11.05 g으로 전체 글루코오스 함량 중 32.5%가 전환됨을 알 수 있었다.

1차 가수분해를 진행하고 나온 고체상을 세척과 건조 후 성분분석을 통해 남아있는 글루코오스의 양을 확인하였고, 액상은 2차 가수분해를 하여 최종 당화율을 물질수지를 통해 알아보았다. *Pinus rigida*의 경우 액상에 포함된 최종 글루코오스 함유량은 33.98 g으로 전체 글루코오스 함량 중 75.7%로 나타났고, EFB의 경우 23.87 g으로 전체 글루코오스 함량 중 70.2%로 나타났다. 최종 당화율과 고체상에 남아있는 글루코오스의 양은 Fig. 9에 나타내었다. *Pinus rigida*와 EFB의 최종 당화율의 차이는 목질계 바이오매스 중 *pinus rigida*는 EFB보다 구조적으로 당화되기 쉬운 구조를 갖기 때문으로 생각된다.

3-5. 2차 가수분해 최대 당화율

2차 가수분해의 시간에 따른 전환율을 이용해 반응시간을 줄일 수 있는 가능성을 알아보기 위해 앞서 진행한 실험조건(120 °C, 9 wt% sulfuric acid)에서 시간에 따른 각 샘플의 최대 당화율을 알아보았다. 해당 결과값은 Fig. 10에 나타내었다. 이 실험은 9 wt%의 황산에 120 °C 조건으로 20분부터 90분까지 2차 가수분해를 진행시켜 얻은 결과이다. 그림을 보면 80분 이후로는 더 이상 당화가 진행되지 않는 것 볼 수 있다. 80분에서 최대 당화율은 *pinus rigida*와 EFB 각각 86.89% (32.4 g/L), 95.18% (39.02 g/L)로 높은 당화율을 보였다. 최종 당화율을 보았을 때 softwood인 *pinus rigida*의 당화율 차이는 바이오매스의 구조적인 특징에서 비롯된 것으로 보인다.

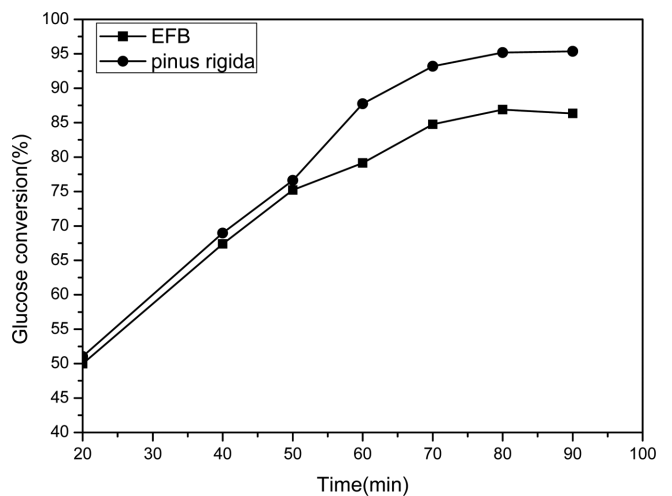


Fig. 10. Glucose conversion using *pinus rigida* and EFB for second hydrolysis about maximum conversion.

## 4. 결 론

본 연구는 목질계 바이오매스를 이용하여 당을 얻기 위해 산당화를 진행하였고, 산을 이용하여 당화할 경우 당의 과분해 생성물이 나오는 것을 최소화 하기 위해 2단 산당화를 진행하였다. 1차 가수분해 단계에서 최적의 반응조건을 알아보기 위해 시간, 온도, 반응시간에 따른 당화율을 검토하여 72 wt%의 고농도 황산을 이용해 80 °C, 10분 의 반응조건을 설계했고, 2차 가수분해 단계에서 마찬가지로 시간, 온도, 농도에 따른 당화율을 고려하여 9 wt%로 희석한 황산에 120 °C, 80분 의 반응조건을 알아보았다.

Fig. 10을 보면 *Pinus rigida*와 EFB 모두 같은 목질계 바이오매스 이지만 좀 더 softwood에 속하는 *pinus rigida*의 경우 같은 시간동안 당화율이 EFB보다 더 높게 나왔고, 최대 당화율은 86.89%로 39.02 g/L에 해당하는 글루코오스가 나왔다. EFB의 경우 최대 당화율은 95.18%로 32.4 g/L에 해당하는 양이 나왔다.

최종 당화율에서는 두 바이오매스 모두 충분한 당화율을 보였지만, 2단 산당화공정을 위해서 2차 가수분해의 반응시간을 적절한 수준으로 최소화 시킬 필요성이 있다고 보인다. EFB의 경우 40분 이후부터 70%가 넘는 전환율을 보이기 때문에 적절한 전환율과 반응시간을 고려해 보아야 할 것이다.

## 감 사

본 연구는 2015학년도 경기대학교 대학원 연구원장학생 장학금 지원에 의하여 수행되었음.

## References

- Limayem, A. and Steven, C. R., "Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production: Current Perspectives, Potential Issues and Future Prospects," *Progress in Energy and Combustion Science*, **38**, 449-467(2012).
- Kumar, P., Barrett, D. M. and Delwiche, M. J., "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Bio-fuel Production," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**, 3713-3729(2009).
- Singh, A., Pant, D., Korres, N. E., Nizami, A. S., Prasad, S. and Murphy, J. D., "Key Issues in Life Cycle Assessment of Ethanol Production from Lignocellulosic Biomass: Challenges and Perspectives," *Bioresource Technology*, **101**, 5003-5012(2010).
- Kim, K. S. and Kim, J. S., "Optimization of Ammonia Percolation Process for Ethanol Production from Miscanthus Sinensis," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **48**, 704-711(2010).
- Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K. and Dalai, A. K., "Production of First and Second Generation Biofuels: a Comprehensive Review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**, 578-597(2010).
- Zhao, X., Cheng, K. and Liu, D., "Organosolv Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Enzymatic Hydrolysis," *Applied Microbiology and Biotechnology*, **82**, 815-827(2009).
- Kim, Y. J., Park, Y. S., Kim, N. R., Gu, J. H., Chae, J. O., Nam, S. I. and Choi, J. H., "Effect of Operation Variables on Char Yield and Characteristics During EFB (empty fruit bunch) Torrefaction," *Journal of Korea Society of Waste Management*, **29**, 122-122(2012).
- Yoon, H. H., "Pretreatment of Lignocellulosic Biomass by Auto-hydrolysis and Aqueous Ammonia Percolation," *Korean Journal of Chemical Engineering*, **15**, 631-636(1998).
- Lee, J. W., "Biological Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol," *Journal of biotechnology*, **56**, 1-24(1997).
- Taherzadeh, M. J. and Karimi, K., "Acid-based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: a Review," *BioResources*, **2**, 472-499(2007).
- Kim, H. Y., Lee, E. S., Kim, W. S., Suh, D. J. and Ahn, B. S., "Material and Heat Balances of Bioethanol Production Process by Concentrated Acid Saccharification Process from Lignocellulosic Biomass," *Clean Technology*, **17**, 156-165(2011).
- Pessoa, A. Jr., Mancilha, I. M. and Sato, S., "Acid Hydrolysis of Hemicellulose from Sugarcane Bagasse," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **14**, (1997).
- National Renewable Energy Laboratory, Standard Biomass Analytical Procedures, [http://www.nrel.gov/biomass/analytical\\_procedures.html](http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html).