

산당화과정을 이용한 볏짚으로부터 셀룰로스 에탄올의 제조

이승범 · 정수경* · 이재동†

경원대학교 환경에너지공학전공, *김포대학 호텔조리과
(2010년 2월 24일 접수, 2010년 3월 29일 채택)

Production of Rice Straw Based Cellulosic Ethanol Using Acidic Saccharification

Seung-Bum Lee, Soo-Kyung Jung*, and Jae-Dong Lee†

Division of Energy & Biological Engineering, Kyungwon University, Gyeonggi 461-701, Korea

*Department of Culinary Arts, Kimpo College, Gyeonggi 415-761, Korea

(Received February 24, 2010; Accepted March 29, 2010)

이산화탄소 저감을 위한 바이오에너지의 개발이 활발히 진행되고 있는 가운데 본 연구에서는 산당화과정을 이용하여 볏짚으로부터 셀룰로스 에탄올의 제조공정을 해석하고자 하였다. 전처리 과정으로는 초음파에너지를 이용한 수화과정과 10~30 wt%의 황산을 이용한 산당화과정을 진행하였으며, 발효과정에서는 10~50 wt%의 효모를 이용하여 3~6 일간 발효시켜 셀룰로스 에탄올 수율을 결정하였다. 최적 전처리조건으로는 375 W의 초음파세기로 30 min 간 수화시킨 후 20 wt%의 황산을 이용하여 산당화과정을 2 h 동안 진행하는 것을 추천할 수 있으며, 30 wt%의 효모를 이용하여 3일간 발효하는 것이 가장 높은 셀룰로스 에탄올 수율을 얻을 수 있었다.

The production process of cellulosic ethanol from rice straw using acidic saccharification was studied in this experimental work. The hydration by ultrasonic energy and the acidic saccharification using 10~30 wt% of H₂SO₄ were performed as pretreatment processes. Also, 10~50 wt% of yeast for 3~6 days was used for fermentation process. The yield of cellulosic ethanol was decided in the fermentation process. The optimum pretreatment condition was 375 W of ultrasonic power and 30 min of hydration time using 20 wt% of H₂SO₄ and 2 h of the acidic saccharification time. Finally, the optimum fermentation condition was at the condition of 30 wt% of yeast and 3 days of fermentation time.

Keywords: cellulosic ethanol, rice straw, acidic saccharification, ultrasonic energy

1. 서 론

1970년대 국제오일쇼크 이후 바이오에너지를 생산할 수 있는 자연 탄소자원인 농업부산물이나 임산물 등의 식물성 바이오매스(biomass)로부터 대체에너지를 얻으려는 연구가 시작되었다. 최근 들어 수년간 중국, 인도, 브라질 등 개발도상국들의 에너지 수요확대가 다시 국제 유가를 급등 시켰고, 국제 에너지 수요가 2050년에는 현재보다 50% 까지 증대될 것으로 예상됨에 따라 화석연료 사용 및 지구대기의 이산화탄소 배출량 또한 크게 증가되어 지구온난화를 가속화시킬 것이다. 이를 대처하기 위해 선진국 8개 정상들은 지난 2005년 7월에 지구 온난화에 대한 국제사회의 우려에 동조하여 지구온난화의 주요원인인 온실가스를 줄일 수 있는 방법을 모색하기로 하였다. 이러한 대체 에너지 중 바이오연료로 통용되는 바이오에탄올이 그 중심에 있다. 바이오에탄올이란 일반적으로 식물을 원료물질로 하여 생산되는 에탄올을 말하며 크게 전분이나 설탕에서 생산되는 에탄올과 바이오매스로부터 생산되는 셀룰로스 에탄올(cellulosic ethanol)로 구분될 수 있다. 현재 대부분의 에탄올은 사탕수수나 사탕무로부터 얻어진 설탕

이나 옥수수전분으로부터 생산되고 있으나 이들 원료물질의 경우 식용으로 사용되기 때문에 물가를 올리는 효과가 있을 뿐만 아니라 전 세계가 필요로 하는 에탄올의 수요량을 충족시킬 수 없다. 따라서 바이오매스로부터 생산되는 셀룰로스 에탄올은 이를 대체할 수 있는 대안이 될 수 있다. 그러나 현재까지 셀룰로스 에탄올 생산이 경제성이 낮고 기술개발이 어려우며, 생산 수율도 떨어지는 등 여러 개선되어야 할 부분들이 존재한다[1-4]. 목질계 바이오매스의 주성분은 에탄올 생산을 위한 값싼 당 제공물질로 식물고분자 탄수화물인 셀룰로스(cellulose, C₆H₁₀O₅)와 헤미셀룰로스(hemicellulose) 및 페놀계 중합체인 리그닌(lignin)으로 구성되어 있다. 1차세포벽 내 수천개의 포도당 사슬이 수소결합으로 이루어진 셀룰로스는 5탄당인 xylose가 주성분을 이루고 낮은 함량의 arabinose (5탄당)와 6탄당인 mannose, galactose로 이루어진 헤미셀룰로스와 연결되어 있다. 이 헤미셀룰로스는 2차 세포벽에서 리그닌과 공유결합을 이루어 세포벽을 튼튼하게 한다[5,6]. 여러 종류의 식물의 구성성분비를 Table 1에 나타내었다.

식물체의 결합구조는 복잡하고 분해하기 어렵기 때문에 식물체로부터 식물고분자 탄수화물인 셀룰로스, 헤미셀룰로스를 분해해서 발효가 가능한 단당으로까지 분해할 수 있는 경제적인 기술개발이 지체되고 있으며, 높은 수율의 셀룰로스 에탄올을 생산하기 위해서는 방

† 교신저자(e-mail: eastlee@kyungwon.ac.kr)

Table 1. Composition of Lignocellulosic Feedstocks[7,8]

	Dry weight percent		
	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
Rice straw	35.0	25.0	12.0
Corn fiber	14.3	16.8	8.4
Corn cob	45.0	35.0	12.0
Corn stover	37.5	22.4	17.6
Wheat straw	38.2	21.2	23.4
Sugarcane bagasse	40.0	24.0	25.0
Switchgrass	31.0	20.4	17.6
Office paper	68.6	12.4	11.3

해요소인 리그닌 함량의 감소가 필요하다. 따라서 본 논문에서는 목질계 바이오매스로 볏짚을 선정하여 구성성분 함량을 측정하고, 셀룰로스 에탄올 제조공정에서 산당화에 따른 리그닌 조성변화와 그에 따른 셀룰로스 에탄올 수율을 측정함으로써 셀룰로스 에탄올 제조공정의 최적화를 이루고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 시료의 전처리 및 수화과정

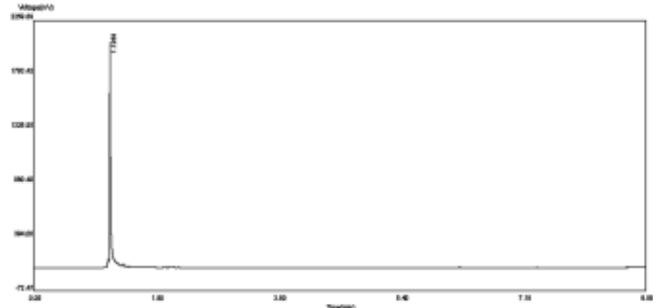
셀룰로스 에탄올 제조에 사용된 볏짚은 전라도 영암산을 이용하였으며, 80~120 mesh의 크기로 분쇄한 후 건조하여 실험에 이용하였다. 실험에 사용된 볏짚의 양은 10 g으로 고정하였다. 산당화과정 전 수화과정은 50 °C에서 물 200 mL에 10 g의 볏짚을 넣어 수행하였다. 예비실험 결과 기계적 교반을 한 경우에 비해 초음파 에너지를 조사하여 수행한 결과 더 높은 셀룰로스 에탄올 수율을 나타내어 초음파 에너지 세기를 225, 300, 375, 450 W로 조절하여 20~40 min 간 조사하여 수화과정을 진행하였다.

2.2. 셀룰로스 에탄올 제조

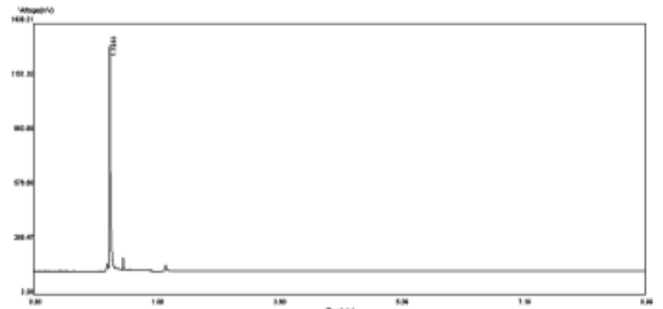
목질계 바이오매스 전처리법 중 가장 많이 사용되는 방법으로는 황산(H₂SO₄), 염산(HCl), 질산(HNO₃), 인산(H₃PO₄) 등을 이용한 산당화과정이다. 산당화과정은 셀룰로스와 헤미셀룰로스의 다당류를 가수분해하여 pentose와 hexos 등의 단당을 생성시키는 것이다. 본 연구에서는 수화과정 후 산당화과정으로 10~30 wt% 황산을 이용하였으며, 1~5 h 동안 진행한 후 리그닌 정량을 수행하였다. 리그닌 정량방법은 산당화 수 볏짚시료 1 g을 분취하여 절대건조무게를 측정한 후 Soxhlet 추출기를 이용하여 알코올-벤젠 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 [10].

$$L = \frac{W}{S} \times 100(\%) \quad (1)$$

여기서, S는 시료의 절대건조무게(g)이고, W는 잔류물의 무게(g)이다. 산당화 후 발효과정은 수산화나트륨을 이용하여 pH=7까지 중화시킨 후 효모(yeast)를 10~50 wt% 범위로 변량하여 3~6일간 발효과정을 수행하였다. 발효과정 후 여과장치를 이용하여 볏짚을 거른 후



(a) Ethanol



(b) Cellulosic Ethanol based on Rice Straw

Figure 1. GC chromatogram of prepared cellulosic ethanol.

회전진공증발장치(rotary vacuum evaporator, Sunil Eyela Co., Ltd)를 이용하여 40 °C의 온도에서 1회 증류하였다. 증류된 셀룰로스 에탄올은 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.

3. 결과 및 고찰

3.1. 셀룰로스 에탄올의 수율계산

Figure 1은 제조된 순수한 에탄올과 볏짚을 이용하여 제조된 셀룰로스 에탄올의 GC 크로마토그램이다. 1.12 min경에 셀룰로스 에탄올 peak를 확인할 수 있었으며, 셀룰로스 에탄올 수율(CE yield)계산은 다음 식을 이용하였다.

$$CE\ Yield = \frac{A_i}{A_{EtOH}} \times \frac{V\rho}{X} \times 100(\%) \quad (2)$$

여기서 A_i는 제조된 셀룰로스 에탄올의 peak면적이며, A_{EtOH}은 99.9% 에탄올의 peak면적이다. V는 셀룰로스 에탄올의 부피(mL), ρ는 에탄올의 밀도(g/mL), X는 실험에 사용된 볏짚의 질량(g)이다.

3.2. 초음파에너지를 이용한 볏짚의 수화과정

수화과정에서의 초음파에너지의 효과를 확인하기 위해 초음파세기를 225~450 W로 변화시키면서 20~40 min 간 수화과정을 수행한 후 셀룰로스 에탄올을 제조하였다. 당화과정은 20 wt%의 황산을 이용하여 2 h 동안 진행하였고, 발효과정은 30 wt%의 효모를 이용하여 3일간 진행하여 셀룰로스 에탄올의 수율을 측정하였다. Figure 2는 수화과정에서 초음파세기에 따른 셀룰로스 에탄올 수율을 나타낸 그림이다.

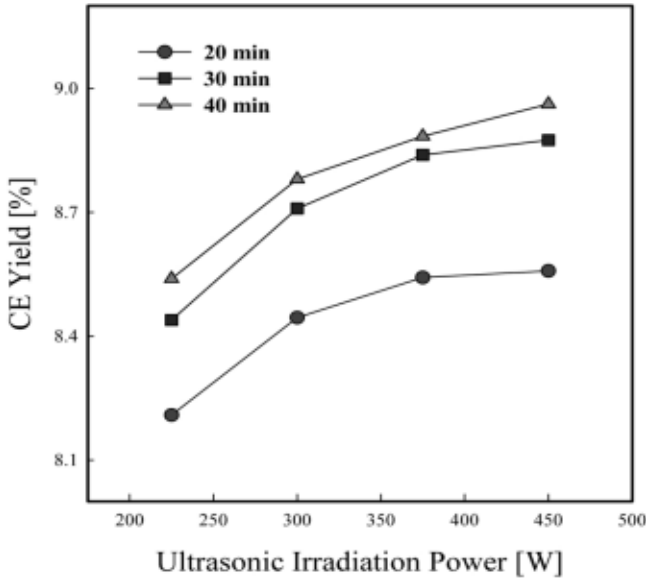


Figure 2. Effect of ultrasonic power in hydration process.

수화과정에서 초음파세기가 증가할수록 셀룰로스 에탄올 수율은 증가하는 경향을 나타내었으나 375 W 이상의 초음파 세기에서는 셀룰로스 에탄올 수율이 더 이상 증가하지 않았다. 또한 수화시간이 증가함에 따라 셀룰로스 에탄올 수율은 증가하였으나 30 min 이상 진행할 경우 증가율은 감소하므로 수화과정의 375 W의 초음파로 30 min 간 조사한 후 산당화 과정을 진행하였다.

3.3. 볏짚의 산당화과정

식물 바이오매스로부터 셀룰로스 에탄올을 생산하는 과정은 식물 구조 내의 고분자물질들인 셀룰로스, 헤미셀룰로스, 리그닌의 효율적인 분리가 선행되어야 한다. 특히 셀룰로스와 헤미셀룰로스의 파괴없이 리그닌을 분해하여 함량을 줄이는 과정이 가장 이상적인 전처리과정이 될 수 있다. 산당화의 기본 목적은 셀룰로스와 헤미셀룰로스의 다당류를 가수분해하여 pentose와 hexos 등의 단당을 생성시키는 것으로 황산 희석법이 현재로는 가장 경제성이 높고 공정이 간단한 방법으로 거론되고 있다[9]. 따라서 본 연구에서는 황산을 이용한 볏짚의 산당화과정에서 당화시간과 황산의 농도의 영향을 알아보기 위해 당화시간을 1~5 h, 황산의 농도를 10~30 wt%로 변화시키면서 실험을 수행하였다. Figure 3은 당화시간과 황산농도 변화에 따른 리그닌의 함량 변화 및 셀룰로스 에탄올의 수율변화를 나타낸 그림이다. 수화과정을 375 W의 초음파에너지를 이용하여 30 min 간 진행한 후 발효과정은 30 wt%의 효모를 이용하여 3일간 수행하였다. 당화 전 볏짚의 리그닌 함량은 11.7 wt%이었으며, 산당화과정에서 황산 농도가 10 wt%에서 30 wt%로 증가함에 따라 리그닌 함량은 8.33 wt%에서 7.8 wt%까지 감소하였다. 그러나 20 wt% 이상의 황산 농도로 산당화를 진행한 경우 리그닌 함량은 거의 감소하지 않았다. 또한 황산농도에 따른 셀룰로스 에탄올 수율은 황산 농도가 증가함에 따라 대체로 증가하였으며, 리그닌 함량의 변화와 마찬가지로 20 wt% 이상의 황산 농도에서는 셀룰로스 에탄올 수율의 증가가 거의 이루어지지 않았다.

Figure 4는 산당화시간에 따른 리그닌 함량과 셀룰로스 에탄올 수율 변화를 나타낸 그림이다. 산당화시간이 1 h에서 5 h로 길어질수록 리그닌 함량은 8.83 wt%에서 7.67 wt%로 감소하였으며, 셀룰로스 에탄올 수율은 7.69%에서 9.05%로 증가하였다. 그러나 2 h 이상으로

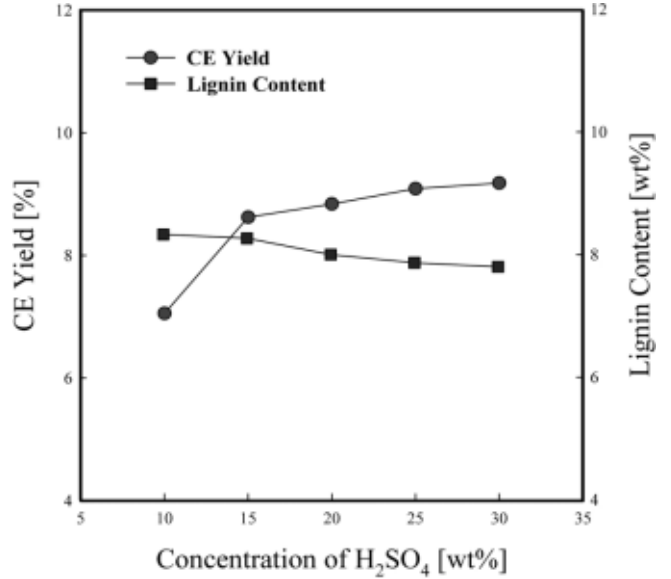


Figure 3. Variation of CE yield with H₂SO₄ concentration in saccharification process.

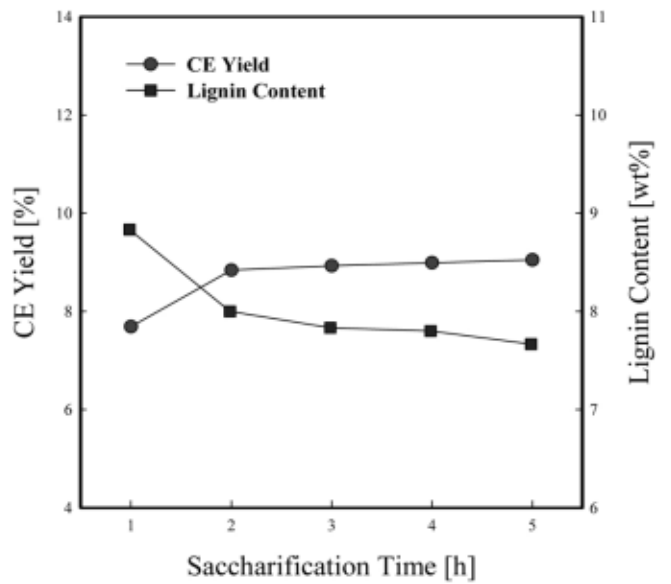


Figure 4. Variation of CE yield with saccharification time.

산당화를 진행한 경우 셀룰로스 에탄올 수율은 거의 변화가 없었다. 따라서 본 연구에서는 최적 산당화조건인 황산 20 wt%를 이용하여 2 h 산당화한 경우 8.84%의 셀룰로스 에탄올 수율을 얻을 수 있었다.

3.4. 볏짚의 발효과정

당을 발효해서 알코올을 생성하는 미생물은 효모(yeast)가 가장 널리 알려져 있으며, 효모에 의한 알코올 발효에서 피루브산은 두 단계에 의해 에탄올로 전환된다. 첫 단계에서 피루브산이 피루브산 탈카르복시화 효소에 의해 탈카르복시화되어 아세트알데히드로 된다. 두번째 단계에서 아세트알데히드는 알코올 탈수소효소에 의해 에탄올로 환원된다. 본 연구에서는 볏짚을 이용한 셀룰로스 에탄올 제조 공정에서 발효시간에 따른 수율 변화를 알아보기 위해 발효시간을 2~6일, 발효 시 사용한 효모의 양을 10~50 wt%의 범위로 변화시키

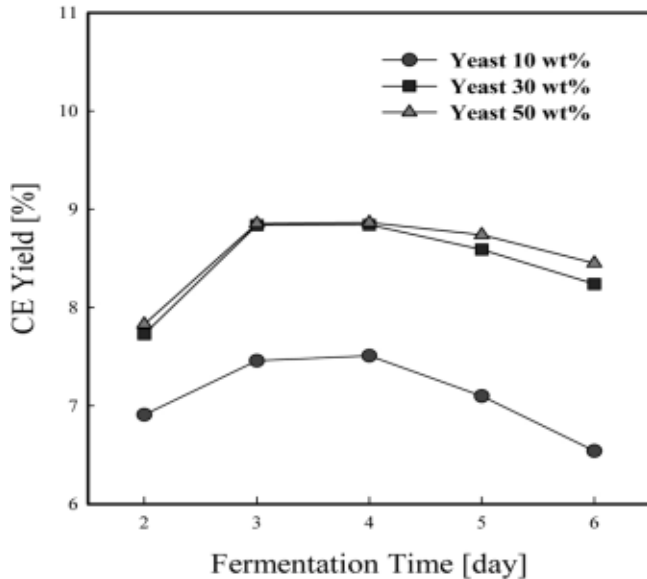


Figure 5. Variation of CE yield with fermentation time.

면서 실험을 수행하였다. 전처리과정으로는 수화과정을 375 W의 초음파에너지를 이용하여 30 min 간 진행한 후 황산 20 wt%를 이용하여 2 h 동안 산당화시켰다. Figure 5는 발효시간과 효모의 양의 변화에 따른 셀룰로스 에탄올 수율 변화를 나타낸 그림이다. 발효시간이 3일까지는 셀룰로스 에탄올 수율이 증가하였으나 4일 이후부터는 제조된 알코올의 산화반응으로 인해 아세트산 등으로 변환되어 오히려 셀룰로스 에탄올 수율은 감소하는 것으로 사료된다. 또한 효모의 양이 증가함에 따라 셀룰로스 에탄올 수율은 증가하였으나 30 wt%와 50 wt%의 효모로 발효한 경우 큰 차이가 발견되지 않아 최적 효모의 양을 30 wt%로 설정하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 벗짚을 이용한 셀룰로스 에탄올의 생산공정에서 수화과정, 산당화과정 및 발효과정의 최적조건을 결정하였다.

1) 초음파에너지를 이용한 수화과정 시 초음파의 세기와 수화시간이 증가함에 따라 셀룰로스 에탄올 수율은 증가하였으며, 375 W의 초

음파의 세기로 30 min 간 조사한 경우 최적 수화조건으로 나타났다.

2) 산당화과정에서는 황산의 농도와 당화시간이 증가함에 따라 리그닌 함량이 감소하여 셀룰로스 에탄올 수율이 증가하였으며, 20 wt%의 황산을 이용하여 2 h 당화과정을 진행한 경우 최적의 셀룰로스 에탄올 수율(8.84%)을 나타내었다.

3) 발효과정에서는 발효시간이 3일까지는 셀룰로스 에탄올 수율이 증가하였으나 4일 이후부터는 제조된 알코올의 산화반응 등으로 오히려 셀룰로스 에탄올 수율은 감소하였으며, 최적 효모의 양을 30 wt%이었다.

이상의 결과로부터 벗짚을 이용하여 산당화과정을 거쳐 셀룰로스 에탄올을 제조할 수 있었으며, 목질계 바이오매스로부터 생산되는 셀룰로스 에탄올 제조공정의 최적화를 이룰 수 있을 것으로 사료된다.

감 사

이 연구는 2010년도 경원대학교 지원에 의한 결과임.

참 고 문 헌

1. C.-H. Chung, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 1 (2008).
2. W.-S. Cho, Y.-H. Chung, B.-K. Kim, S.-J. Suh, W.-S. Koh, and S.-H. Choe, *J. Plant Biotechnol.*, **34**, 111 (2007).
3. J. R. Weil, A. Sarikaya, S.-L. Rau, J. Gotetz, C. M. Ladisch, M. Brewer, R. Hendrickson, and M. R. Ladisch, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **68**, 21 (1997).
4. Y. Sun and J. Cheng, *Bioresour. Technol.*, **83**, 1 (2002).
5. C. Somerville, S. Bauer, G. Brininstool, M. Facette, T. Hamann, J. Milne, E. Osborne, A. Paredez, T. Raab, S. Vorwerk, and H. Youngs, *Science*, **306**, 2206 (2004).
6. J. Rose and A. B. Bennett, *Trends Plant Sci.*, **4**, 176 (1999).
7. B. C. Saha, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **30**, 279 (2003).
8. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladisch, *Bioresour. Technol.*, **96**, 673 (2005).
9. S. E. Jacobance and C. E. Wyman, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **84**, 81 (1999).
10. S.-J. Park, Y.-H. Do, J.-S. Choi, Y.-H. Yoon, and I.-S. Cha, *Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society*, **20**, 142 (2009).