

효소 가수분해 향상을 위해 glycerol 수용액을 사용한 폐지의 전처리

서동일, 김창준, 김성배*

Pretreatment of Wastepaper using Aqueous Glycerol to enhance Enzymatic Hydrolysis

Dong Il Seo, Chang-Joon Kim, and Sung Bae Kim*

접수: 2013년 1월 23일 / 게재승인: 2013년 2월 22일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Pretreatment of wastepaper using aqueous glycerol was investigated to enhance the enzymatic hydrolysis. The effects of four factors (solid/liquid ratio, glycerol concentration, acid concentration, and reaction time) on the dissolution yield, the removal of cellulose, hemicellulose and lignin, and the enzymatic digestibility were examined at 150°C. The 1/8 of solid/liquid was determined to perform the reaction uniformly, and the 93% of glycerol concentration was found to be a minimum concentration to conduct the reaction under atmospheric pressure. Also, it was found that the acid concentration and reaction time were strongly related to the dissolution yield and the removal of cellulose, hemicellulose and lignin, but moderately to the enzymatic digestibility. At an optimum condition of 150°C, 1 h and 1% acid concentration, 56% and 49% of hemicellulose and lignin, respectively, were removed, while only 4% of cellulose was removed. The enzymatic digestibility at this condition was 86%, meaning that 83% of the glucan present in the initial substrate was converted to glucose. Compared to glycerol with ethylene glycol as a pretreatment solvent, glycerol is much cheaper than ethylene glycol, but ethylene glycol is superior to glycerol in delignification.

Keywords: Enzymatic hydrolysis, Glycerol, Organosolv, Pretreatment, Wastepaper

1. 서론

바이오 에탄올 생산을 위한 섬유질 바이오매스 기질의 전처리는 일반적으로 산, 염기, 수증기, 유기용매 등을 사용하여 물리화학적으로 처리되고 있다. 이들 방법 중에서 유기용매를 사용하는 방법은 섬유질 기질에서 리그닌을 제거하는데 매우 효과적이어서 펄프 제조분야에서 상당한 주목을 받아왔다 [1]. 유기용매는 저비점과 고비점 유기용매가 있는데 에탄올같은 저비점 용매는 휘발성과 가연성이 높아 폭발 위험 때문에 실제 공정에서는 사용하기 어렵다. 그래서 ethylene glycol (EG)와 glycerol 같은 고비점 유기용매가 고려되는데 이들 물질의 가장 큰 장점은 비점이 높아 전처리 반응이 대기압에서 이루어질 수 있어 고압장치가 필요없다는 점이다. 반대로 단점은 용매 비용이 비싸고 사용 후 용매를 회수하는 경우 고비점으로 인해 에너지 비용이 많이 소요된다는 점이다 [2]. 최근 전처리 용매로 EG를 사용하여 폐지를 전처리한 결과 셀룰로오스는 모두 기질에 남겨두고 헤미셀룰로오스와 리그닌을 각각 60%와 75%를 제거하였고, 효소 당화율은 94%에 도달하였다 [3]. 그리고 용매 비용을 줄이기 위해 사용한 용매를 회수하여 4번까지 재사용하였다. 또한 EG를 사용하여 경제성을 더욱 높이는 방법으로 여러 번 사용하고 남은 EG 폐액을 polyester같은 생분해성 고분자 물질을 제조하는 연구를 발표하였다 [4].

EG와 비슷한 화학적 성질을 가진 glycerol은 최근 섬유질

경상대학교 공과대학 생명화학공학과
Department of Chemical & Biological Engineering, Gyeongsang
National University, Jinju 660-701 Korea
Tel: +82-55-772-1781, Fax: +82-55-772-1789
e-mail: sb_kim@gnu.ac.kr

기질의 전처리에 많이 이용되고 있다 [5-10]. 전처리 용매로 사용된 EG에 비해 glycerol의 가장 큰 장점은 낮은 용매 가격인데 2006년 기준으로 바이오디젤 공정에서 생산된 glycerol 가격이 석유화학공정에서 생산된 EG가격의 절반 이하이다 [11]. 이것은 glycerol이 바이오디젤 생산 공정에서 부산물로 생산되고 전체 생산량의 약 10%를 차지하기 때문이다 [12]. 최근 자동차 디젤유를 대체하고자 바이오디젤 생산량이 증가하고 있고, 이 때문에 glycerol이 과잉 생산되어 glycerol 가격이 급격히 하락하고 있다. 바이오디젤 생산 공정에서 생산되는 정제되지 않은 glycerol은 glycerol 농도가 65~85%이고 나머지는 주로 메탄올과 비누 등이다 [13,14]. 이 정제되지 않은 glycerol의 순도를 높이기 위해서는 중화, 탈염, 응축, 증류, 탈색 등 여러 단계를 거쳐야 하기 때문에 기술적으로 어렵고 비용이 많이 소요된다. 그래서 정제되지 않은 glycerol을 전처리 용매로 사용할 수 있으면 전처리 공정의 경제성 뿐만 아니라 바이오디젤 생산 공정의 경제성도 상당히 높일 수 있을 것으로 생각된다.

저비점 용매와는 달리 고비점 용매를 사용하는 전처리 연구는 극히 제한되어 있다. glycerol을 사용한 전처리 연구는 2007년 95% 순도의 glycerol을 wheat straw 전처리에 사용한 것을 시작으로 바이오 디젤 부산물로 생산된 정제되지 않은 glycerol을 전처리 용매로 사용하는 연구가 이루어졌다 [5-8]. 그리고 sugarcane bagasse와 활엽수를 glycerol 수용액으로 전처리하는 연구가 발표되었다 [9,10]. wheat straw나 bagasse 같은 초본성 기질은 비교적 전처리 효과가 크므로 산과 같은 촉매를 사용하지 않았고, 전처리가 어려운 활엽수는 여러 종류의 산을 촉매로 사용하여 전처리 효과를 조사하였다. 이들 연구의 공통적인 문제점은 반응온도가 180~240°C로 높아 반응조건이 가혹하고 대기압에서 기질을 전처리하기 어렵다는 점이다. 폐지는 비교적 회수하기 쉽고 지속적으로 많은 원료 공급이 가능하다는 장점이 있지만 표면에 잉크, 충전제 등과 같은 효소 가수분해를 방해하는 물질이 포함되어 있어 전처리 효과를 높이기 아주 어려운 물질이다 [15,16]. 이 연구에서는 glycerol 수용액과 산 촉매를 사용하여 비교적 낮은 온도와 대기압에서 폐지를 전처리하고 전처리 조건이 기질 용해율, 기질을 구성하는 각 성분의 제거율, 그리고 효소 당화율에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

기질로 사용된 폐신문지 (매일경제, 경남일보)는 5 mm 크기의 체가 내장된 IKA cutting mill (IKA MF10, Germany)을 사용하여 분쇄하였다. 수분을 제외한 기질의 초기 조성은 glucose 59.5%, xylose 16.6%, Klason lignin 11.8%, ash 9.4% 이었다. 전처리 용매는 glycerol과 ethylene glycol (99%, Junsei, Japan), 세척 용매는 1,4-dioxane (Junsei, Japan), 촉매는 황산(96%) (Merck KGaA, Germany)을 사용하였다.

2.2. 전처리

반응기로는 환류응축기를 연결한 100 mL 2구 플라스크 반응기를 사용하였다. 반응을 위해 6 g 건조기질과 미리 제조된 전처리 용매를 기질/용매 (solid/liquid, w/w)비에 따라 반응기에 넣고 3시간 동안 실온에 두었다. 전처리 용매는 glycerol에 물을 첨가하여 필요한 농도로 맞추고 전처리 용매의 0~2% (wt%)에 해당하는 황산을 혼합하여 제조하였다. 반응기는 oil bath 내 설치하고 교반기의 교반속도를 100 rpm으로 유지하면서 원하는 시간 동안 반응을 진행하였다. 반응이 끝난 다음 반응기는 차가운 물에서 10분간 냉각시키고 내용물은 200 mL dioxane/water (4/1, v/v) 용매를 사용하여 씻어내고 자석교반기를 사용하여 2시간 동안 교반한 후 여과하였다. 여과된 기질은 100 mL dioxane/water 용매와 400 mL 증류수를 사용하여 충분히 씻어내고 압착하여 수분을 제거한 뒤 두 부분으로 나누었다. 한 부분은 105°C에서 하루 밤 동안 건조시켜 반응 동안 제거된 고체의 비율인 용해율을 식 (1)을 사용하여 계산하고, 1.5 mm 크기의 체가 내장된 IKA 분쇄기로 분쇄하여 기질의 조성을 분석한 후 식 (2)를 사용하여 각 성분의 제거율을 계산하였다. 나머지 부분은 수분 손실을 막기 위해 밀폐용기에 담아 냉장보관 하였다가 0.5 g 셀룰로오스에 해당하는 양을 취하여 효소 당화율 측정에 사용하였다.

$$\text{용해율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응 후 시료 무게}}{\text{초기 시료 무게}}\right) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{제거율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응 후 남은 성분의 무게}}{\text{초기 성분의 무게}}\right) \times 100 \quad (2)$$

2.3. 시료의 성분분석

2.3.1. 당 성분분석

분쇄한 기질을 0.3 g 취해 시험관에 넣고 72% (25°C에서 비중 1.63) 황산용액 3 mL를 주입하여 잘 섞이도록 저어주었다. 그 다음 30°C 항온조에 넣고 15분 간격으로 저어주면서 1시간 동안 가수분해하였다. 가수분해 후 100 mL autoclave 병에 옮겨 담고 여기에 84 mL의 증류수를 가하여 4%의 황산용액으로 만들어 121°C autoclave에 넣고 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 실온까지 식힌 후 3 mL 시료를 취하여 원심분리하고 상층액을 HPLC로 분석하였다. 분석에 사용된 HPLC 시스템은 Lab Alliance P6000 pump (Apple Valley, MN, USA), Shodex RI-101 detector (Showa Denko, Japan), Spectra System autosampler (Thermo Separation Product Inc., Riviera Beach, FL, USA)로 구성되었다. 자료 획득 및 처리는 MultiChro (Yullin Technologies Co., Seoul, Korea)를 사용하였다. 분석칼럼은 ICsep COREGEL 87H3 (Transgenomic Inc., San Jose, CA, USA)이고 사용조건은 65°C에서 0.005 M 황산을 1분당 0.55 mL 흘렸다. 이 칼럼은 xylose, mannose, galactose를 분리할 수 없으므로 이 값을 헤미셀룰로오스라고 논문에 표기하였다.

2.3.2. Klason lignin 분석

분쇄한 시료를 완전히 건조한 후 1 g 취하여 시험관에 넣고 72% 황산용액을 15 mL 주입하여 잘 섞이도록 저어주었다. 그런 다음 실온에서 2시간 동안 두면서 15분 간격으로 잘 저어주고, 2시간 후에는 시료를 1000 mL 플라스크에 옮겨 담고 560 mL의 증류수를 가하여 3%의 황산용액으로 만들었다. 여기에 환류냉각기를 장착하여 4시간동안 잔잔하게 끓인 후 실온까지 식혀 ash를 포함하지 않은 Whatman No.41 필터를 사용하여 여과하였다. 여과한 필터는 105±3°C의 건조기에서 완전히 건조시킨 후 무게를 측정하고 필터무게를 제외한 잔류기질 (lignin + ash)의 무게를 기록하였다. 무게를 재고 난 필터는 도가니에 담아 575±3°C의 전기로에서 5시간 이상 충분히 태운 후 남아있는 ash 무게를 측정하여 리그닌 양을 계산하였다.

2.4. 효소 당화율 측정

가수분해반응 중 생성된 cellobiose의 저해작용을 최소화하기 위해 cellulase와 β-glucosidase의 부피 비를 4:1로 하여 첨가하였다. 미리 계산된 건조기준 0.5 g 셀룰로오스에 상응하는 기질을 250 mL 플라스크에 넣은 후 완충용액 (citrate buffer, pH = 4.8) 25 mL와 3차 증류수를 넣어 50 mL로 만들었다. 효소는 첨가량이 15 FPU/g cellulose에 해당하는 양을 사용하였다. 그리고 미리 예열해둔 50°C 진탕항온조에서 90 storke의 교반속도로 72시간 동안 반응시켰다. 채취한 시료는 HPLC로 분석하고 (3)식으로 효소 당화율을 계산하였다.

$$\text{당화율 (\%)} = \frac{\text{가수분해된 } \textit{glucan} \text{ 무게 (g)}}{\text{첨가된 } \textit{glucan} \text{ 무게 (g)}} \times 100 \quad (3)$$

3. 결과 및 고찰

1 기압에서 순수 glycerol의 비점은 290°C이나 수용액에서는 농도에 따라 상당히 다르다. glycerol 농도가 50~90% 범위에서는 glycerol 수용액의 비점이 약 107~140°C 범위 내에서 거의 선형적으로 증가하나 90% 이후에서는 92% (149°C), 96% (175°C), 98% (210°C)로 농도에 따라 급격히 증가한다 [17]. 전처리용매로 EG를 사용한 경우의 온도범위를 고려하면 대기압에서 glycerol를 전처리 용매로 사용하기 위해서는 적어도 90% 이상의 glycerol 수용액을 사용해야 한다 [3]. 바이오디젤 생산의 부산물로 회수된 glycerol 농도는 65~85%로 비교적 낮다 [13]. 그러므로 대기압에서 glycerol을 전처리 공정에 사용하기 위해서는 별도의 농축공정이 필요하다. 바이오디젤 부산물로 회수된 glycerol을 농축없이 전처리 공정에 사용한 연구의 대부분은 glycerol 농도가 70%대이고 반응온도는 190~240°C 범위이다 [6-8]. 그리고 탈리그닌 용매로 사용한 glycerol 농도는 45~75%이고 온도는 165~225°C 범위이다 [1,10]. 이들 연구에서는 대부분 전기히터가 장착된 반응기를 사용했는데 일정한 온도를 유지하는 oil bath와는 달리 전

기히터는 여러 개의 원하는 온도를 설정하여 열부하를 조절할 수 있기 때문이다. 전기히터를 사용하면 대기압에서 70~75% glycerol 수용액을 225°C까지 10분 만에 올릴 수 있으나 많은 기포가 발생해 45분에 걸쳐 원하는 온도까지 올렸다고 보고하였다 [1]. 많은 기포가 발생했다는 사실은 가열도중 상변화가 일어나 물이 증발하고 glycerol 농도가 높아졌다는 것을 뜻하므로 70% 정도의 glycerol 수용액을 대기압에서 전처리 용매로 사용하기는 어렵고 glycerol을 농축하든지 고압반응기 사용하든지 해야 원하는 온도를 올릴 수 있을 것으로 생각된다. 예비실험에서 180°C를 유지하는 oil bath에서 96.5% glycerol을 사용하여 반응기 내 온도를 측정할 결과 대기압에서 설정온도의 95%에 도달하는데 걸리는 시간은 약 14분이었고, 최고온도는 36분 후 도달하였는데 177°C이었다. 같은 조건에서 93% glycerol 경우 최고온도는 156°C이었다.

3.1. 기질/용매 (S/L) 비

점도 또한 glycerol 농도에 따라 급격히 증가하는데 20°C에서 glycerol 농도에 따라 수용액의 점도를 비교하면 50% (6 cP), 70% (22.5 cP), 90% (210 cP), 100% (1410 cP)이다 [19,20]. 선행연구 [3]에서 사용한 순수 EG (비점 197.6°C)의 점도가 21 cP인 것을 고려하면 glycerol 점도는 EG보다 매우 높다. 그래서 glycerol을 전처리 용매로 사용하면 상대적으로 높은 점도 때문에 EG와 같은 S/L 비에서 균일한 반응이 일어나기 어렵다. 전처리 용매로 순수 EG를 사용한 경우 균일반응이 일어나는 최소 S/L 비가 1/4이었는데, glycerol의 경우 이 비에서는 반응 중 교반으로 인하여 기질이 반응기 벽에 붙어 일관성 있는 실험 결과를 얻기 어려웠다. 그래서 S/L 비를 1/6, 1/8, 1/10의 비율로 glycerol 수용액 양을 증가시켜 실험했는데 적어도 1/8이 되어야만 기질이 교반 동안 반응기 벽에 붙는 현상을 최소화해서 일관성 있는 결과를 얻을 수 있었다.

Fig. 1은 S/L 비에 따른 용해율과 셀룰로오스, 헤미셀룰로오

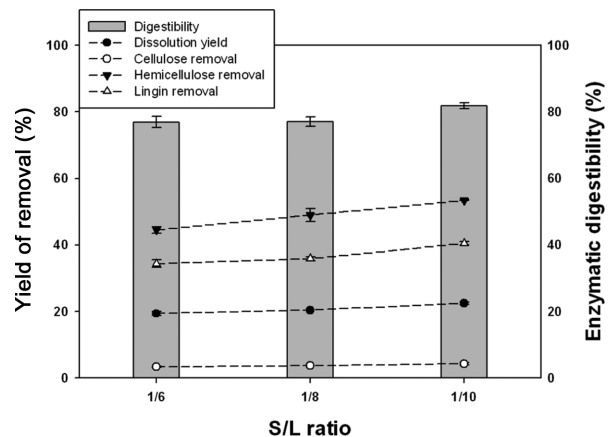


Fig. 1. Effect of solid/liquid ratio on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 150°C, 96.5% glycerol, 2% H₂SO₄, 15 min.

오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소당화율의 변화를 나타낸 그림인데 S/L 비가 1/6을 기준으로 1/10 결과를 비교하면 용해율 3%, 셀룰로오스 0.9%, 헤미셀룰로오스 9%, 리그닌 6%, 효소 당화율은 5% 정도 소폭 증가하였다. 이렇게 모든 값이 증가한 원인은 사용한 고체에 비해 액체의 양이 증가함에 따라 고체와 액체의 접촉이 보다 원활해진 결과라고 생각된다. 그러나 전처리 공정의 경제성을 고려하면 가능한 용매 사용량을 줄이는 것이 바람직하므로 S/L 비는 균일반응을 위한 최소 비인 1/8로 결정하였다. 이 값은 기존 연구 [5-8]에서 사용된 1/10~1/30보다는 고체 기질에 비해 사용된 용매 양이 상당히 작다는 것을 의미한다.

3.2. 용매 종류

glycerol을 대기압에서 폐지의 전처리 용매로 사용하기 위해 반응조건을 결정해야하는데, 출발점으로 EG를 전처리 용매로 사용했을 때 얻은 최적조건 (150°C, 15분, 2% 황산)을 선택하였다 [3]. 대기압에서 glycerol 수용액 비점이 150°C가 되기 위해서는 glycerol 농도가 적어도 92.3%보다 커야 하므로 93%, 96.5%, 99% (순수 glycerol)를 사용하여 용해율, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소 당화율을 조사하였다 (Fig. 2). glycerol 농도가 93%에서 99%로 증가함에 따라 용해율은 4.7%, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 제거율은 각각 0.9%, 11.5%, 11.8% 증가하였다. glycerol 농도에 따른 셀룰로오스 제거율의 변화는 거의 없었지만 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율의 증가는 11% 정도로 상당히 높았다. 이렇게 헤미셀룰로오스와 리그닌의 제거율이 같이 상승하는 것은 헤미셀룰로오스와 리그닌이 셀룰로오스를 둘러싸고 있는 구조적 특성 때문으로 생각된다.

또한 전처리 용매에 따른 전처리 성능을 비교하기 위해 99%의 glycerol과 EG를 사용하여 결과를 비교하였다 (Fig. 2). EG의 용해율이 glycerol 용해율보다 4%정도 높았으나 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 제거율은 거의 같았다. 두 용매의 가장 큰 차이점은 리그닌 제거율인데 EG의 경우 76%로

glycerol을 사용할 때 49%보다 약 1.6배 높았다. 즉 EG는 glycerol보다 리그닌을 선택적으로 제거하는 능력이 탁월하였고, 효소당화율도 glycerol을 사용할 때보다 9% 정도 높은 90%이었다. 효소 당화율 차이의 주원인은 높은 리그닌 제거율 때문인 것으로 생각된다. EG와 glycerol을 사용하여 전처리할 때 셀룰로오스 제거율은 두 경우 같이 96%정도 회수할 수 있었고 효소 당화율은 각각 90%와 81%이었다. 이것은 기질에 존재하는 셀룰로오스의 86%와 78%를 glucose로 전환할 수 있다는 의미이다. EG와 glycerol 용매를 사용하는 전처리 공정의 장단점은 비슷하지만 가장 큰 차이는 용매가격이다. 2006년 유럽에서 조사한 EG (석유화학 공정 제품)와 glycerol (바이오디젤 생산 부산물)의 가격을 비교하면 EG 가격이 glycerol보다 2~4배 높은 것으로 나타났다 [11]. EG와 glycerol의 끓는 점이 198°C와 290°C인 것을 고려하면 전처리공정에 사용 후 증류공정에 의해 이들을 회수하여 재사용하기에는 에너지 비용이 너무 높다 [2]. 이런 문제점을 해결하는 하나의 방안으로, EG의 경우, 사용한 EG를 회수하여 재사용하는 방법인데 4번 정도까지 재사용하여도 전처리 성능 저하는 10% 이내로 크게 떨어지지 않았다 [3]. 이후 남은 EG 폐액은 점도가 높아 재사용하기 어려워 polyester를 제조하는 원료물질로 사용하여 EG 전처리 공정의 경제성을 높이고자 하였다 [4]. glycerol도 EG와 같은 방법으로 재사용하고 유용한 물질 제조의 원료로 사용하는 방법을 연구할 필요가 있다고 생각된다.

3.3. 황산 농도

전처리 반응에 영향을 미치는 주요 변수는 반응온도와 시간, 산 농도이다. 이들 세 변수는 상호 의존적이어서 한 변수를 크게 하면 나머지 변수를 작게 해도 같은 크기의 반응성을 얻을 수 있다. 그래서 중심 합성 설계 (central composite design)와 같은 통계적인 방법을 사용하여 1개의 최적점을 구하기 어렵다 [3]. 반응온도는 앞에서 설명한 바와 같이 93% 수용액을 사용할 경우 150°C가 실험에 사용할 수 있는 최고온도이고 앞서 연구한 EG 결과와 비교하기 위해 150°C를 채택하였다. 일반적으로 묽은 산 전처리에서는 3% 이하의 산 농도를 사용하므로 EG 경우의 최적조건 (150°C, 15분, 2% 황산)인 2%를 최고 농도로 하여 산 농도에 따른 용해율, 각 성분의 제거율과 효소 당화율을 조사하였다 (Fig. 3). 산 농도가 0.5% 이내에서 셀룰로오스는 제거되지 않았고 헤미셀룰로오스와 리그닌은 10% 이하로 제거되었다. 효소 당화율도 65%대로 거의 같아 산 농도가 0.5% 이하에서는 산 농도가 전처리 성능에 거의 영향을 주지 않는다고 할 수 있다. 이 같은 사실은 일반적으로 바이오매스 기질이 산이나 염기를 중화할 수 있는 능력이 있고 활엽수 경우 기질 1g당 7.5~9 mg의 산을 중화할 수 있어 유효 산 농도는 실제 산 농도보다 낮다는 보고에서 확인할 수 있다 [21]. 즉 0.5% 정도의 낮은 황산을 첨가하는 경우 glycerol 수용액에 포함된 거의 대부분의 황산은 기질과 반응하여 산으로서 역할을 못한다고 생각할 수 있다. 그러나 산 농도가 0.5%보다 커지면 산 농도

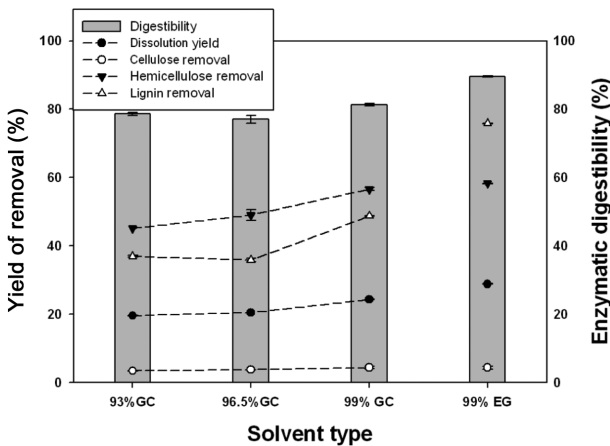


Fig. 2. Effect of solvent type on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 150°C, 93% glycerol, 2% H₂SO₄, 15 min, 1/8 S/L ratio.

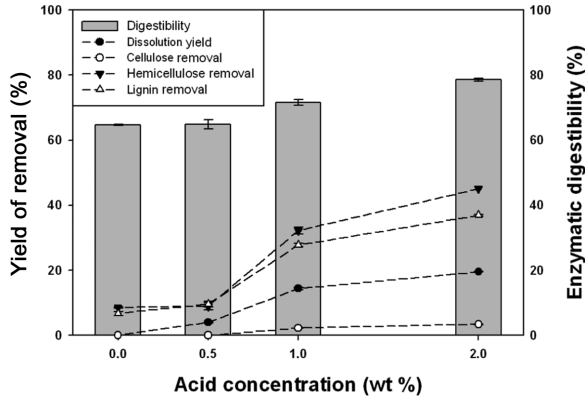


Fig. 3. Effect of acid concentration on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 150°C, 93% glycerol, 15 min, 1/8 S/L ratio.

의 증가에 따른 용해율과 각 성분 제거율이 크게 증가하는 경향을 보였고 1% 이상 첨가하는 경우 제거율의 증가속도가 현저히 감소하였다. 효소 당화율도 산 농도의 증가에 따라 증가하여 2%일 때 79%에 도달하였다. 산 농도가 1%인 경우 2% 경우보다 효소 당화율이 6% 정도 낮지만 산 농도에 따른 각 성분 제거율의 증가속도를 고려하면 1%가 더 유리하다고 할 수 있다. 낮은 산 농도의 사용으로 인한 반응성 저하는 반응시간을 길게 하여 올릴 수 있으므로 산 농도를 낮추고 반응시간을 길게 하는 방향으로 반응조건을 선택하였다.

3.4. 반응시간

낮은 산 농도의 사용으로 인한 반응성 저하를 보완하기 위해 반응시간을 15분에서 30분, 1시간, 2시간으로 증가시켜 실험하였다 (Fig. 4). 반응시간에 따라 용해율의 증가속도는 처음에는 증가하다가 30분 이후부터 감소하지만, 셀룰로오스 제거율은 30분 이후부터 거의 선형적으로 증가하였다. 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율은 30분까지는 크게 증가하다가

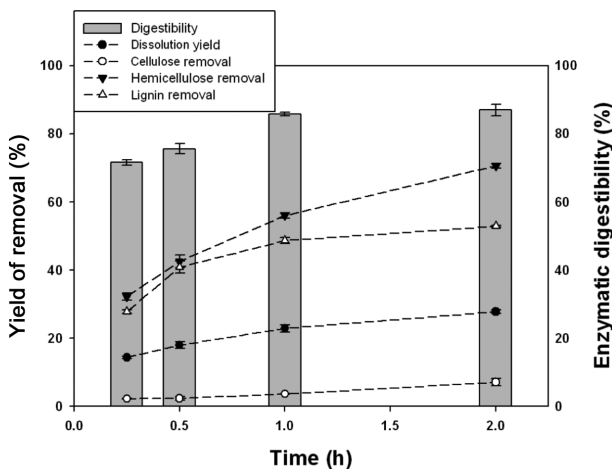


Fig. 4. Effect of reaction time on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 150°C, 93% glycerol, 1% H₂SO₄, 1/8 S/L ratio.

30분 이후에는 증가속도가 감소하였는데 헤미셀룰로오스보다 리그닌 제거율이 현저하게 감소하였다. 효소 당화율의 경우 1시간까지는 거의 선형적으로 증가하다가 1시간 이후는 거의 증가하지 않았다. 전처리의 주요목적이 전처리된 기질 내 셀룰로오스 잔존율 (1-제거율)과 셀룰로오스의 효소 당화율을 최대화하는데 있으므로 전처리 효과는 (전처리 후 기질 내 셀룰로오스 잔존율)과 (효소 당화율)의 곱의 값으로 평가해야 한다 [3]. 이 값이 반응시간이 1시간일 때는 0.83이고 2시간 경우는 0.81로 오히려 감소하므로 최적조건은 (150°C, 1%, 1시간, S/L = 1/8)으로 생각할 수 있고 이 조건에서 셀룰로오스 잔존율 96%, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율은 56%와 49%, 효소 당화율은 86%이다. 비슷한 glycerol 농도인 95%를 사용하여 wheat straw를 전처리한 Sun 등 (5)의 결과는 전처리 조건이 (240°C, 무촉매, 4시간, S/L = 1/15)이었고 전처리 결과는 셀룰로오스 잔존율 95%, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율 90%와 70%, 효소 당화율은 92%이 었다. 두 전처리 결과를 비교하면 셀룰로오스 잔존율과 효소 당화율에서는 차이가 크지 않지만 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율의 차이는 크다. 이것은 두 기질 특성의 차이 때문인데, 폐지는 앞선 공정에서 분해가 용이한 상당량의 헤미셀룰로오스와 리그닌이 제거된 펄프로 만들어졌기 때문이다. 그러나 촉매로 황산을 1% 사용하면 반응조건을 크게 완화 시킬 수 있는데, 즉 반응온도와 시간을 240°C와 4시간에서 150°C와 1시간으로 크게 줄일 수 있기 때문에 산을 사용하는 방법이 더 경제적이라고 생각된다.

EG (99%)와 glycerol (93%)를 각각 최적조건에서 사용했을 때 얻은 결과를 비교하면 EG의 경우 셀룰로오스 잔존율은 96%, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율은 58%와 76%, 효소 당화율은 90%이었다. glycerol의 경우 각각 96%, 56%, 49%와 86%이었다. 셀룰로오스 잔존율, 헤미셀룰로오스 제거율과 효소 당화율의 차이는 크지 않았으나 리그닌 제거율의 차이는 매우 컸다. 같은 반응조건에서는 전반적으로 EG보다 glycerol의 용해율과 효소 당화율이 조금 낮게 나타났는데, 이것은 리그닌 제거율의 차이에서 기인된 것이라고 할 수 있다. 위의 결과를 고려하면 EG가 glycerol보다 좀 더 나은 폐지의 전처리 용매라고 생각할 수 있고 EG의 점도가 glycerol 점도보다 낮아 공정상 보다 유리한 용매라고 할 수 있다. 그러나 바이오디젤 생산공정의 부산물로 생산되는 glycerol은 바이오디젤 생산시설 확장에 따라 용매 비용 감소로 인한 이점이 공정상 이점보다 더 커기 때문에 glycerol을 좀 더 효과적으로 전처리에 사용할 수 있는 연구가 필요하다고 생각된다.

4. 결론

폐지의 효소 가수분해를 높이기 위해 glycerol 수용액을 사용하여 폐지를 전처리하고, 전처리 조건에 따른 기질 용해율, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 효소 당화율

의 변화를 조사하였다. 먼저 일관성있는 실험결과를 얻기 위해 기질과 용매 비인 S/L 비를 조사하였다. 그리고 EG를 전처리 용매로 사용한 선행실험 결과와 비교하기 위해 반응온도를 150°C를 선택하고, 이 온도에서 고압장치를 사용하지 않고 대기압 상태에서 전처리 반응을 수행하기 위한 glycerol 수용액의 농도 범위를 조사하였다. 전처리반응에 영향을 미치는 나머지 주요변수는 촉매인 산 농도와 반응시간인데 이들 변수 값이 증가하면 용해율, 각 성분의 제거율, 그리고 효소 당화율이 증가하였다. 93% glycerol 수용액을 사용하여 150°C, 1%, 1시간 동안 폐지를 전처리한 결과 초기기질에 존재하는 셀룰로오스의 83%가 당화되었다. 전처리 용매로 EG와 비교한 결과 EG는 glycerol에 비해 탁월한 리그닌 제거능력을 가져 효소 당화율이 좀 더 높았고, glycerol은 용매 비용 측면에서 더 유리한 것으로 나타났다. 그러나 glycerol은 바이오디젤 생산공정의 부산물로서 바이오디젤 생산량의 증가에 따라 가격이 급격하게 하락하고 있기 때문에 EG보다 전처리용매로 활용 가능성이 좀 더 높다고 생각된다.

REFERENCES

- Demirbas, A. (1998) Aqueous glycerol delignification of wood chips and ground wood. *Bioresour. Technol.* 63: 179-185.
- Zhao, X., K. Cheng, and D. Liu (2009) Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 82: 815-827.
- Lee, D. H., E. Y. Cho, C.-J. Kim, and S. B. Kim (2010) Pretreatment of waste newspaper using ethylene glycol for bioethanol production. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 15: 1094-1101.
- Lee, D. H., C.-J. Kim, and S. B. Kim (2012) Preparation of polyester using waste ethylene glycol generated from the wastepaper pretreatment process. *KSBB J.* 27: 51-56.
- Sun, F. and H. Chen (2007) Evaluation of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by atmospheric glycerol autocatalysis. *Chem. Technol. Biotechnol. J.* 82: 1039-1044.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Comparison of atmospheric aqueous glycerol and steam explosion pretreatments of wheat straw for enhanced enzymatic hydrolysis. *Chem. Technol. Biotechnol. J.* 83: 707-714.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Enhanced enzymatic hydrolysis of wheat straw by aqueous glycerol pretreatment. *Bioresour. Technol.* 99: 6156-6161.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Organosolv pretreatment by crude glycerol from oleochemicals industry for enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Bioresour. Technol.* 99: 5474-5479.
- Liu, J., R. Takada, S. Karita, T. Watanabe, Y. Honda, and T. Watanabe (2010) Microwave-assisted pretreatment of recalcitrant softwood in aqueous glycerol. *Bioresour. Technol.* 101: 355-360.
- Novo, L. P., L. V. Gurgel, K. Marabezi, and A. A. Curvelo (2011) Delignification of sugarcane bagasse using glycerol-water mixtures to produce pulps for saccharification, *Bioresour. Technol.* 102: 10040-10046.
- Haveren, J. V., E. L. Scott, and J. Sanders (2008) Bulk chemicals from biomass. *Biofuels., Bioprod. Bioref.* 2: 41-57.
- O'Driscoll, C. (2007) Seeking a new role for glycerol. *Biofuels., Bioprod. Bioref.* 1: 6-7.
- Pyle, D. J. (2008) *Use of biodiesel-derived crude glycerol for the production of omega-3 polyunsaturated fatty acids by the microalga Schizochytrium limacinum.* M.S. Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University, VA, USA.
- Fangxia, Y., M. A. Hanna, and R. Sun (2012) Value-added uses for crude glycerol-a byproduct of biodiesel production. *Biotechnol. Biofuels.* 5: 13.
- Kim, H. J., S. B. Kim, and C.-J. Kim (2007) The effects of non-ionic surfactants on the pretreatment and enzymatic hydrolysis of recycled newspaper. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 12: 147-151.
- Kim, S. B., H. J. Kim, and C.-J. Kim (2006) Enhancement of the enzymatic digestibility of waste newspaper using Tween. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 130: 486-495.
- Perry, R. H., D. W. Green, and J. O. Maloney (1999) *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 7th ed., pp. 1254-1255. McGraw-Hill, USA.
- Kck, M. (2005) Delignification of biomass using alkaline glycerol. *Energy Sources* 27: 1245-1255.
- Miner, C. S, and N. N. Dalton (1953) *Glycerol*, pp. 285-287. American Chemical Society Monograph Series, Reinhold Publishing Company, NY, USA.
- National Physical Laboratory, Mechanical properties of materials viscosities, Submission of manuscript. [http://www.kayelab.npl.co.uk/general_physics/2_2_2_3.html](http://www.kayelab.npl.co.uk/general_physics/2_2/2_2_3.html). (2012).
- Kim, S. B. and Y. Y. Lee (1987) Kinetics in acid-catalyzed hydrolysis of hardwood hemicellulose. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 17: 71-84.