

바이오탄올 생산을 위한 목질계 바이오매스의 전처리

강춘형*

전남대학교 공과대학 응용화학공학부
(chkang@chonnam.ac.kr*)

Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Ethanol Production

Choon-Hyoung Kang *

Department of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University
(chkang@chonnam.ac.kr*)

서론

현재까지의 대부분의 에탄올은 전분을 기반으로 하는 발효공정을 통하여 얻고 있으며 나머지는 화학적인 합성을 통하여 생산하고 있다. 곡물의 전분과 당을 기반으로 하는 에탄올 발효공정기술은 잘 정립되어 있다. 그러나 곡물의 경우에는 식량으로 활용할 수 있는 가치가 높고 당으로 전환시킬 수 있는 분율이 크지 않아 대량으로 소모되는 수송용 연료로 사용하기 위한 에탄올 생산공정으로는 경쟁력이 상당히 낮다. 따라서 자연에서 대량으로 값싸게 얻을 수 있으며 쉽게 당으로 전환시킬 수 있는 섬유소와 헤미셀룰로우스가 풍부하게 포함된 목질계 바이오매스를 원료로 하여 에탄올을 생산하기 위한 연구가 광범위하게 진행되어 왔다.

지금까지 여러가지 전처리 방법들이 제시되고 연구되어 왔다. 최근에 제시된 암모니아수를 이용하여 전처리하는 소위 소위 암모니아 재순환 침출공정(ARP, Ammonia Recycled Percolation)은 이들 중 하나이다[1]. 암모니아는 리그닌에 선택적으로 작용하여 리그닌 내의 C-O-C 결합을 파괴하고 리그닌과 탄수화물의 착화합물(LCC)에 포함되어 있는 에테르 결합과 에스테르 결합을 해체하는 매우 효과적인 탈리그닌 화합물이다. 또한 암모니아 가수분해 반응에 의해 리그닌과 헤미셀룰로우스의 결합을 해체시킴으로써 표면적을 증대시켜 후속반응인 효소 가수분해반응의 속도와 수율을 현저하게 향상시키는 역할을 한다. 한편, 암모니아로 처리된 바이오매스에서는 에탄올 발효에 필요한 탄수화물의 손실이 적어 높은 에탄올 수율을 기대할 수 있다. 실제 ARP 공정을 적용한 연구에서는 90%이상의 glucan 과 50% 이상의 헤미셀룰로우스가 용해되지 않고 잔류하는 결과를 보여주고 있다. ARP 공정의 장점 중 하나는 암모니아의 휘발성이 강해 쉽게 회수하여 재사용할 수 있다는 것이며 이로 인해 전체적인 공정의 경제성 면에서도 다른 전처리 공정들과 비교할 수 있게 된 것이다. 관통형 반응기를 사용하는 ARP 공정은 처음 제안된 이후로 여러가지 목질계 바이오매스에 적용되어 그 효용성이 잘 입증되어 왔다.

본 연구에서는 에탄올을 생산하기 위한 볏짚의 전처리에 ARP 공정을 적용하여 타당성과 함께 최적 공정조건을 탐색하였다. 조사한 ARP 공정 변수와 범위는 다음과 같다. 즉,

반응시간은 10 min.~90 min., 반응온도는 150°C.~190°C, 암모니아 농도는 0%~20%의 범위를 조사 대상으로 하였다. 또 ARP 로 전처리된 시료의 효소 가수분해 실험뿐 아니라 당화와 발효가 동시에 한 반응기 안에서 일어나는 동시당화발효 공정과 당화와 발효가 동시에 일어나며 특히 혼합당이 하나의 미생물에 의해 공동으로 발효되는 동시당화공동발효 실험을 행하여 그 효율성을 확인하였다.

본론

본 연구에 사용한 볏짚은 전남지방에서 2005년에 수확한 벼로부터 채취하였으며 45°C의 강제대류 오븐에서 건조하였다. 건조된 볏짚을 잘게 분쇄하여 20~80 mesh 사이의 분획을 취하여 사용하였다. 미국신재생에너지연구소(NERL)의 방법(Chemical Analysis and Testing Standard Procedures(CATS), 2004)에 의거하여 분석한 볏짚의 초기조성은 다음과 같다. 즉, glucan 37.3%, xylan 17.1 %, 총 lignin 19.2%, galactan 1.8 %, arabinan 3.4 %, mannan 1.8%, ash가 8.7%, 그리고 acetyl group이 약 1.7%이었다. 표준시료로 사용한 α -cellulose는 Sigma사로부터 구입하였으며 셀룰라제인 Spezyme CP(Lot No. 301-00348-257, 비활성도는 31.2 FPU/mL)와 자일라나제인 Multifect(단백질 함량이 43.7 mg/mL)는 Genencor International Corporate(Palo Alto, CA)에서, Novo Inc.에서 구입한 β -glucosidase인 Novozyme 188(Lot No. 11K1088)의 비활성도는 750 CBU/mL이었다. 동시당화발효실험에서 사용된 발효균주 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 20062(D₅A)는 YP배지(1%의 yeast extract와 2%pepton)에서 38°C, 150 rpm로 유지되는 진탕배양기에서 활성화시켜 사용하였다. 또 동시당화공동발효실험에서는 *Escherichia coli* ATCC 55124(KO11)를 LB배지(1%의 tryptone 0.5%의 yeast extract 1%의 NaCl, 40 ml/L의 chloramphenicol이 포함됨)을 사용하여 활성화시켜 사용하였다. 여러 당과 부산물들의 함량은 Aminex HPX-87P 컬럼이 장착된 HPLC를 사용하여 결정하였다.

바이오에탄올의 생산을 위한 암모니아 재순환 침출공정은 액체 저장고, 펌프, 온도조절이 가능한 오븐, SS-316으로 제작된 반응기(9/10 in. ID x 10 in L, 내부부피는 101.9 cm³), 유출되는 액체를 저장하기 위한 고압액체용기로 구성되어 있다. 본 연구의 모든 실험에서는 유속을 5.0 mL/min으로 고정하여 사용하였다. 시료의 분해효소에 의한 가수분해실험은 NREL의 CATS No. 009(2004)의 절차에 의거하여 수행하였다. 동시당화발효 실험에는 YP 배지에서 활성화시킨 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 20062를, 동시당화공동발효실험에는 LB배지에서 활성화시킨 *Escherichia Eoli* ATCC 55124(KO11)를 접종함으로써 무산소 분위기에서 실험을 시작한다. 일정한 간격으로 채취한 시료를 HPLC로 분석하여 생성된 에탄올 양을 측정하였다

Fig.1 에는 170°C에서 전처리한 시료의 반응시간에 따른 무게회수율과 잔류고체의 성분, 그리고 72h 가수분해도 및 탈리그닌 정도의 변화가 도시되어 있다. 반응시간이 증가함에 따라 무게회수율과 헤미셀룰로오스와 리그닌의 함량은 감소하고 가수분해반응도는 증가하여 최대 90%까지 도달함을 알 수 있다. Fig.2.에는 전처리 온도가 낮을수록 높은 가수분해도를 나타내었다. 150°C와 170°C의 경우에는 초기반응속도는 비슷하였으나, 72 h 가수분해도에서는 150°C인 경우가 가장 높은 값을 보였다. 그러나 190°C의 경우에는

이보다 훨씬 낮은 초기속도와 가수분해도를 나타내었다. 따라서 볏짚에 대한 ARP공정은 150℃에서 가장 효율적으로 적용되는 결과를 얻었다.

150℃에서 여러 반응시간에 따른 가수분해반응 결과를 Fig.3에 도시하였다. 이 결과로부터 반응시간이 30분 이상이 되면 더 이상 72h 가수분해도에 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 또, 150℃에서 20분간 전처리한 시료에 셀룰라제와 더불어 자일란나아제를 함께 투입한 실험에서는 같은 온도에서 60분 이상 전처리한 시료(72h 가수분해도가 86.84%)보다 높은 가수분해도(93.16%)를 보였다.

반응온도와 반응시간 그리고 반응기 내로의 주입속도를 각각 170℃, 30분 그리고 5mL/min로 고정하고 암모니아 농도를 0%~20% 사이에서 변화시켜 가면서 수행한 효소 가수분해반응의 결과를 Fig. 4에 도시하였다. 암모니아의 농도가 높을수록 72 h 가수분해도가 증가하였으나, 15%이상의 농도에서는 뚜렷한 향상이 관찰되지 않았다(15%인 경우 79.15%, 20%인 경우 77.33%). 따라서, 볏짚의 경우에도 다른 목질계 바이오매스의 경우와 마찬가지로 전처리에 가장 효과적인 암모니아 농도는 15wt%임을 확인할 수 있었다. 144 h 후의 에탄올 수율은 초기의 glucan을 기준으로 약 81%의 수율을 나타냈으며, 이는 에탄올 생성량으로 환산하면 약 13.8 g/L에 해당된다.

Fig.6에 도시된 SSCF실험의 결과에는 최대 에탄올 농도는 120 h에 약 15.2 g/L의 값으로 나타났으며 이는 최대이론값의 약 89%에 해당한다. 위에서 서술한 SSF 실험의 결과와 비교하여 비해 약 10%의 높은 수율을 얻을 수 있었다.

결론

암모니아의 농도를 15wt%, 주입유량을 5mL하였을 때 150℃와 170℃ 사이에서는 반응온도가 높을수록, 또한 반응시간이 길수록 헤미셀룰로우스와 리그닌의 제거율이 높았으며 그에 따라 효소 가수분해도(63%~90%)도 향상되었다. 최대 가수분해도는 170℃에서 90 min 동안 전처리한 시료의 경우로 약 90%에 달하였다. 실험에서는 암모니아 농도가 15 wt%인 경우가 가장 효과적이었으며 셀룰라제와 자일란나아제를 함께 투입한 가수분해반응 실험의 결과로부터 효소 가수분해는 리그닌 뿐만 아니라 헤미셀룰로우스에 의해서도 영향을 받음을 알 수 있었다. 동시당화발효실험에서는 13.8 g/L 에탄올이 생성되었으며 이는 초기 glucan 양을 기준으로 하여 약 81%의 수율을 나타낸다. 동시당화공동실험에서는 15.2 g/L의 에탄올 생성과 89%의 수율을 나타내어 동시당화발효의 결과보다 약 10%의 향상을 보였다.

참고문헌

- [1] Yoon, H.H., Wu, Z.W., and Lee, Y.Y., "Ammonia-recycled percolation process for pretreatment of biomass feedstock", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 51.52, 5-19(1995)

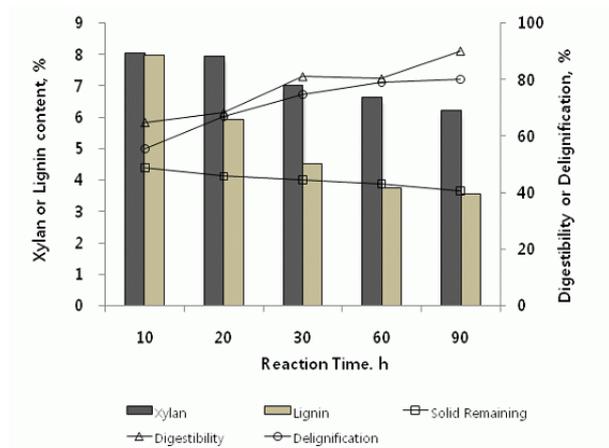


Fig. 1. Effects of the reaction time on solid composition, digestibility and delignification for ARP-pretreated rice straw.

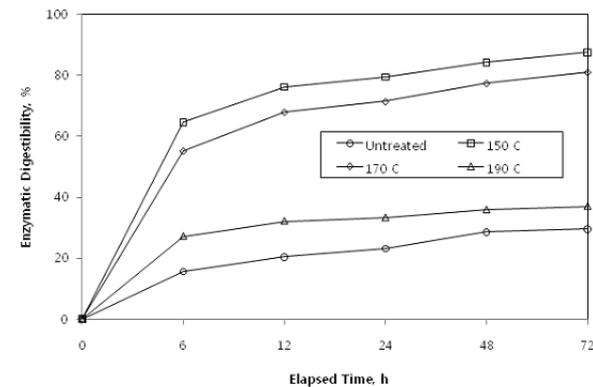


Fig. 2. Enzymatic hydrolysis of ARP-pretreated rice straw at various reaction temperatures for 30 min with 15 wt% ammonia with 5 mL/min of flowrate under 2.3 Mpa.

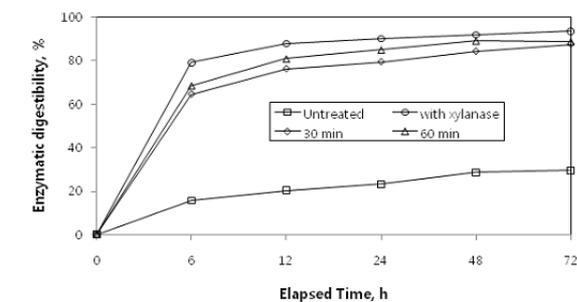


Fig.3. Enzymatic digestibility of untreated and ARP-treated rice straw samples..

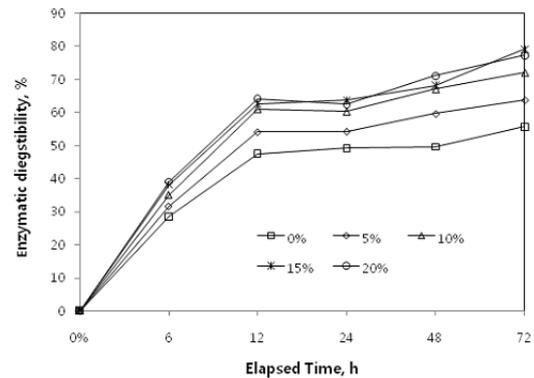


Fig. 4. Effect of ammonia concentration on enzymatic digestibility of ARP-treated rice straw.

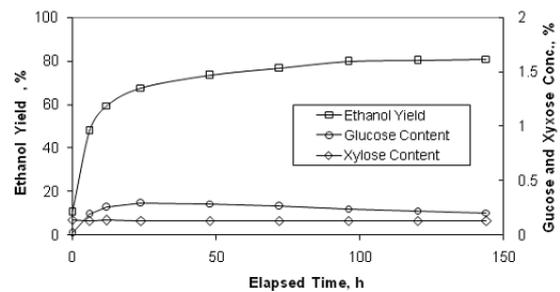


Fig. 5. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of ARP-pretreated rice straw by D₅A yeast

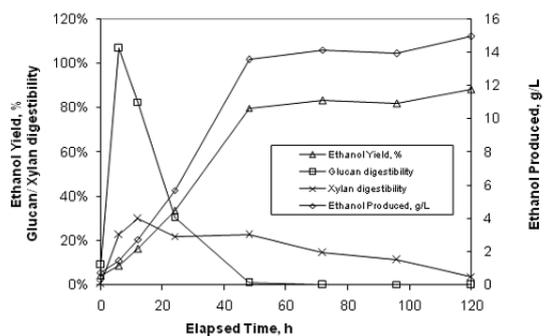


Fig.6. Simultaneous saccharification and co-fermentation (SSCF) of ARP-pretreated rice straw by recombinant *E. coli* (KO11).