

초임계수를 이용한 표고 버섯 폐골목의 가수분해

구본욱¹, 최준원², 최돈하², 최인규¹

¹서울대학교 산림과학부, ²국립산림과학원 임산공학부 화학미생물과

1. 서론

산업개발에 의한 에너지 소비의 증가와 화석연료의 고갈로 인하여 2010년 이전에 전 세계적으로 원유 생산량이 감소할 것으로 예상되고(Ye sun *et al.*, 2002), 또한 화석연료의 사용으로 인해 발생하는 여러 가지 환경적인 문제로 인해 기존의 화석에너지를 대신할 새로운 대체에너지의 개발에 대한 요구는 지속적으로 증가하고 있다. 특히 바이오매스를 이용하여 생산되는 바이오에탄올은 새로운 대체에너지로서 주목 받고 있으며 실제 미국에서는 gasohol 또는 oxygenated fuel 등의 형태로 부분적으로 gasoline을 대체하고 있으며, gasoline 소비량의 약 1%에 해당하는 4,540 million liters가 연간 소비되고 있는 실정이다(Wang *et al.* 1999). 그러나 현재의 에탄올 생산의 대부분은 corn을 원료로 하여 생산되기 때문에 식량자원으로서의 활용과 경쟁해야 하는 문제점을 갖고 있으며, 또한 기존의 석유연료와 비교해서 생산비용이 상대적으로 높다는 단점을 갖고 있다. 이러한 생산비용과 재료 확보의 문제를 극복하기 위한 방법으로 lignocellulosic 재료를 활용하는 방법이 제안되어 많은 연구가 진행되어 왔다. Lignocellulosic 재료들은 에탄올 생산을 위한 재료로서 유용하게 활용될 수 있는 cellulose 성분을 다량 함유하고 있어 cellulose의 활용성을 보다 극대화 할 수 있다면 에탄올 생산 비용 절감에 큰 영향을 끼칠 것이며 이는 에탄올의 석유에너지 대체 가능성을 더 높여줄 것으로 생각된다. 다양한 lignocellulosic 재료 중 한국과 일본을 비롯한 동북아 지역에서 식용 버섯 생산을 위해 사용되는 참나무 원목(골목)은 보통 3년 정도 사용된 후 많은 양이 자연상태에서 폐기 또는 불용처리되고 있는 실정이다(Kim *et al.*, 1994). 그러나 폐골목은 버섯 재배 기간동안 생성된 균체 및 효소에 의하여 cellulose 결정화도가 감소되고 부분적인 lignin 및 cellulose의 분해가 진행되며(Koo *et al.* 2005) 또한 버섯 재배 기간 동안 목질부의 부후에 의한 정도 감소로 인해 당화에 유리한 조건을 갖고 있어 대체에너지 개발을 위한 새로운 자원으로서 충분한 가능성을 갖고 있다. 따라서 본 연구에서는 폐골목의 새로운 바이오매스 자원으로서의 가능성을 확인하기 위하여 먼저 기존의 산 가수분해를 통한 정상재와 폐골목간의 당화 수율을 비교하고, 산 당화 공정이나 효소 당화 공정이 아닌 친환경적이며 빠른 반응 속도를 갖는 새로운 당화공정으로 주목받고 있는 초임계수 가수 분해 공정에 적용하여 최적 조건을 탐색함으로써 미래 지향적인 대체 에너지에 적합한 친환경적인 공정에 대한 기초 기술을 제공하고자 하였다(Saka *et al.* 1999, Sasaki *et al.* 1998).

2. 재료 및 방법

2.1 공시 재료

경기도 화성의 버섯 농장으로부터 표고버섯 골목으로 사용되는 상수리나무(*Quercus acutissima* Carruth) 정상재와 실제 3년간 재배에 이용된 골목을 제공받아 ball mill을 이용하여 60mesh 크기 이하의 목분으로 제조하여 공시재료로 사용하였다.

2.2 폐골목 및 정상재의 산 가수분해

새로운 바이오매스 소재로서 폐골목의 가능성을 확인하기 위한 산 가수분해는 klason lignin 정량법에 의해 실시하였다. 반응이 끝난 당화액에 대하여 CarboPac PA10 column을 장착한 High-pH Anion Exchange Chromatography (Dionex)를 이용하여 단당류에 대한 분석을 실시하였다.

2.3 초임계수 가수분해

초임계수 가수분해를 위하여 국립산림과학원에서 보유하고 있는 연속식 초임계수 가수분해 장치를 이용하였다. 2차 증류수를 반응수로 이용하였으며 반응수는 예열부를 거친 후 반응부로 이동하였고, 재료로 사용된 목분은 예열부를 거치지 않고 바로 반응기로 주입되었다. 정량적이고 균일한 주입을 위하여 목분 10g과 증류수 500ml가 혼합된 슬러리 형태로 주입되었고, 주입된 목분과 반응수는 반응기에서 혼합되어 반응이 진행되었다. 초임계수를 이용한 폐골목의 최적 가수분해 조건을 확립하기 위하여 먼저 동일한 수종의 정상재에 대하여 물의 아임계 및 초임계 조건인 335~445°C의 범위의 반응 온도, 23~30MPa의 반응압력 하에서 15~60초사이의 반응 시간을 두고 초임계수 가수분해 반응을 진행하였다. 정상재에 대한 다양한 반응 조건에서의 초임계수 가수분해 반응이 끝난 후 분해 산물에 대한 단당류 분석을 실시하였고 이를 토대로 하여 상수리나무에 대한 최적 초임계수 가수분해 조건을 결정하였으며 결정된 최적 조건에서 폐골목에 대한 초임계수 가수분해 반응을 진행하였다.

2.4 초임계수 가수분해 산물 분석

초임계수 가수분해 산물 분석을 위해 분해 산물을 filter paper(Whatman, ϕ 185mm)를 이용하여 수용성 부분과 비수용성 부분으로 분리하고 각각에 대한 분석을 실시하였다. 비수용성 부분을 이용하여 반응 조건에 따른 분해율 계산 및 powder x-ray diffractometer에 의한 결정화도가 측정되었으며 또한 당화수율 향상 가능성의 확인을 위해 TAPPI method에 의하여 비수용성 부분내에 잔존하는 holocellulose 및 lignin 함량분석, 산 가수분해 후 단당류 분석이 실시되었다. 수용성 부분에 대하여는 pH 측정과 단당류 정량분석을 실시함으로써 최적 초임계수 가수분해 조건을 구하고자 하였으며 반응 조건별 lignin 분해 산물의 분석을 위하여 수용성 부분에 대한 ethyl-acetate 분획을 실시하고 이렇게 얻어진 ethyl-acetate 가용부에 대한 GC/MS 분석을 통하여 lignin 분해 산물을 조사하였다. 또한 새로운 전처리 방법으로써 초임계수 가수분해의 가능성을 확인하고 당화 공정으로서 수율 향상 가능성을 살펴보기 위하여 수용성 부분에 95% H₂SO₄을 첨가하여 4%(w/w) H₂SO₄ 수용액으로 만든 후 이를 120°C에서 40분간 반응시킨 후 생성물내에 존재하는 단당류에 대한 분석을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폐골목과 정상재의 산 가수분해

폐골목과 동일한 수종의 정상재에 대하여 산 가수분해를 실시한 결과 폐골목의 holocellulose 함량은 정상재보다 큰 폭으로 감소하였지만(Koo et al. 2005) 산 가수분해에 의한 당화 수율은 60.76%로 59.13%의 정상재보다 약간 더 높은 값을 나타내었다. 이는 접

중 초기 cellulose가 균의 대사에 이용되면서 부분적인 분해가 진행되고 이에 따라 holocellulose 함량은 큰 폭으로 감소하였지만 완전히 분해되어 배출된 것이 아닌 oligomer 형태로 목분내에 존재하게 되고, 이렇게 존재하는 oligomer들로 인해 정상재와 폐골목의 산 가수분해에 의한 당화 수율은 비슷한 값을 갖는 것으로 사료된다. 주요 단당류로는 정상재와 폐골목 모두 cellulose 구성당인 glucose와 hemicellulose의 구성당인 xylose가 주요 단당류였다.

3.2 반응 조건에 따른 분해율 및 pH

반응 시간과 온도에 따른 분해율은 25.9%에서 83.9%로 다양하게 나타났고, 반응 시간과 온도가 증가함에 따라 분해율은 상승하는 모습을 보여주었다. 특히 445°C-60초의 반응조건에서는 83.9%에 이르는 높은 분해율을 보여주었다. 그러나 반응 압력의 증가에 따른 분해율의 변화는 큰 변화를 나타내지 않았다. pH는 3.42에서 6.01을 나타냈고, 반응시간 및 온도가 증가함에 따라 낮아져서 산성화되는 경향을 보여주었지만 분해율과 마찬가지로 반응 압력에 의한 차이를 보여주지 않았다.

3.3 반응 조건에 따른 결정화도

반응 온도 및 시간이 상승함에 따라 결정성 cellulose의 분해에 의한 결정화도의 감소가 예상되었지만 실제 측정된 결정화도는 오히려 증가하는 모습을 보여주었다(335°C-30초 : 38.0% → 415°C-60초 : 68.6%). 이러한 결과는 본 연구에서 진행된 초임계수 가수분해 반응이 비결정성 영역에서부터 시작되며, 결정성 셀룰로우스는 분해하지 못하여 비수용성 부분에 잔존하게 되는 결정성 셀룰로우스 함량의 증가 때문인 것으로 사료된다.

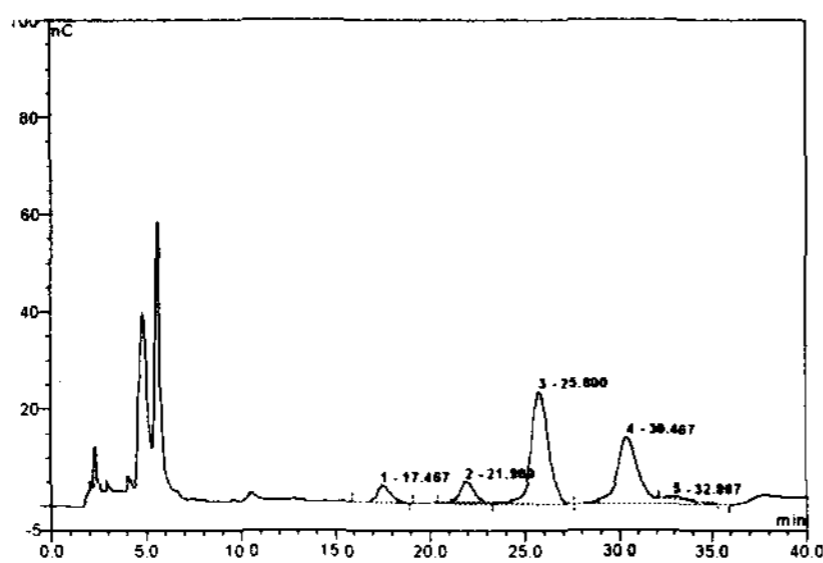
3.4 초임계수 가수분해에 의한 당화 수율 및 최적 당화 조건 확립

폐골목의 최적 초임계수 가수분해 조건을 구하기 위하여 먼저 동일한 수종의 정상재에 대한 초임계수 가수분해를 반응 온도(335°C, 375°C, 415°C, 445°C), 시간(15초, 30초, 45초), 압력(23MPa, 30MPa)을 변화시키면서 실시하였다. 얻어진 가수분해 산물에서 분리된 수용성 부분에 대하여 arabinose, galactose, glucose, xylose, mannose의 5종의 단당류 수율을 HPAEC를 이용하여 분석, 확인하였고 측정된 당화 수율의 결과를 [표 1]에 나타내었다.

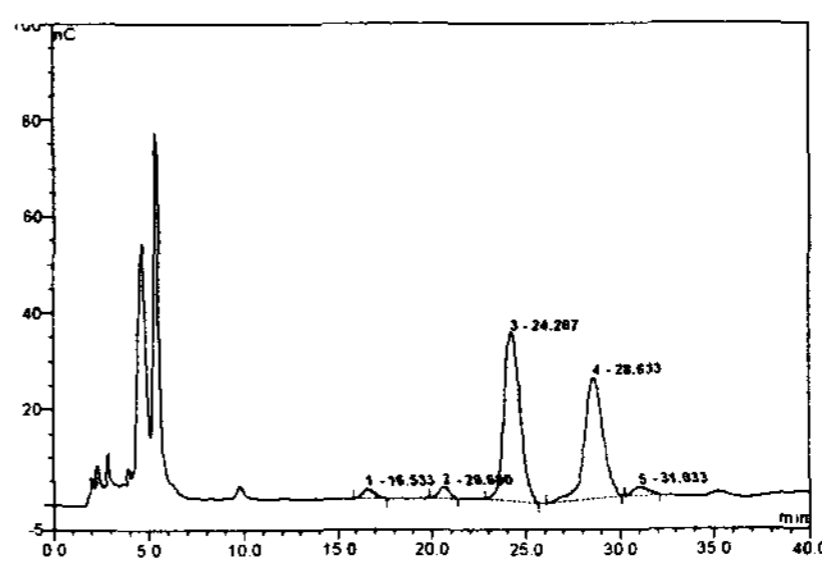
[표 19] 초임계수 가수분해에 의한 정상재의 반응 조건별 당화 수율

시료명	Ara (ug)	Gal (ug)	Glu (ug)	Xyl (ug)	Man (ug)	총량 (ug)	당화 수율 (wt%)
335°C-30s-23MPa	0.00	0.00	0.83	105.98	0.00	106.80	1.07
335°C-60s-23MPa	29.85	9.14	24.27	37.38	6.03	106.67	1.07
375°C-15s-23MPa	0.00	0.00	6.52	1.72	0.84	9.08	0.09
375°C-30s-23MPa	8.52	0.00	122.42	44.51	6.07	181.52	1.82
375°C-60s-23MPa	32.47	18.46	53.40	96.49	9.34	210.15	2.10
415°C-15s-23MPa	20.59	5.43	19.51	19.17	5.11	69.81	0.70
415°C-30s-23MPa	11.07	2.47	17.15	3.70	2.45	36.84	0.37
415°C-60s-23MPa	16.84	17.77	118.90	106.57	7.91	267.99	2.68
445°C-60s-23MPa	0.25	1.38	90.76	9.99	5.46	107.84	1.08
335°C-60s-30MPa	17.51	16.79	28.65	100.77	1.00	164.73	1.65
415°C-60s-30MPa	10.18	16.49	56.66	85.68	3.62	172.63	1.73

반응 시간 및 온도의 증가는 당화 수율을 향상시키는 것으로 나타났으며, 반응 압력의 경우 낮은 반응 온도에서는 수율을 증가시키지만 높은 반응 온도에서는 수율을 오히려 감소시키는 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 토대로 상수리나무의 최적 초임계수 가수분해 조건을 415℃, 60초, 23MPa로 결정하고 동일한 조건에서 폐골목에 대한 초임계수 가수분해를 실시하였다. 가수분해 방법 및 분석 방법은 정상재와 동일하게 실시하였으며 최적 가수분해 조건에서 반응한 정상재와 폐골목의 단당류 분석 chromatogram은 [그림1]과 [그림2]에 각각 나타내었다.



[그림32] 정상재의 단당류 chromatogram
(@415℃, 23MPa, 60초)

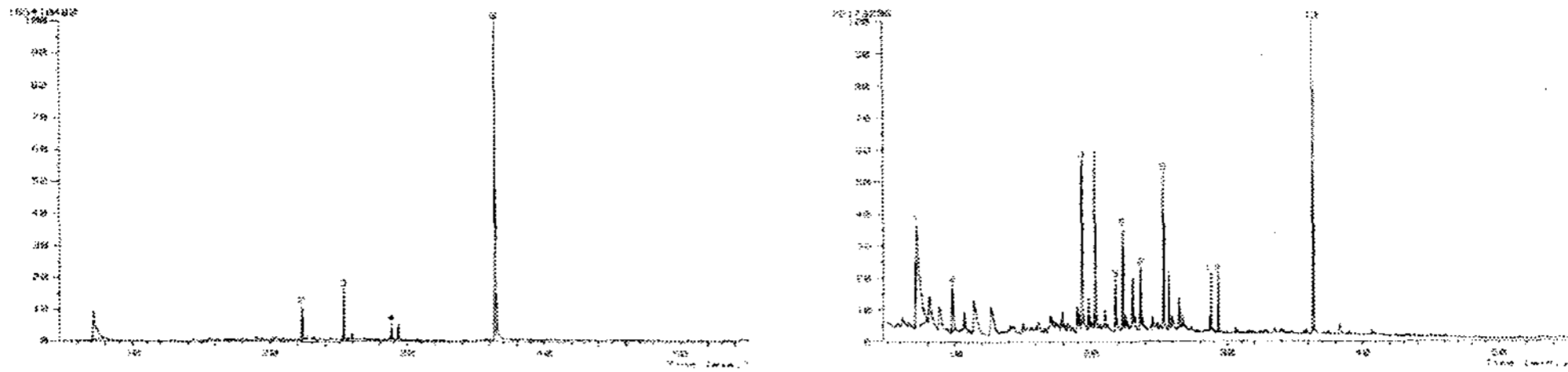


[그림33] 폐골목의 단당류 chromatogram
(@415℃, 23MPa, 60초)

산 가수분해에 의한 당화 수율이 비슷한 값을 나타냈음에도 불구하고 폐골목의 초임계수 가수분해에 의한 당화 수율은 3.58%로 동일한 반응 조건에서 정상재의 당화 수율 2.68%보다 증가하였다. 이러한 결과는 초임계수 가수분해에 의한 당화가 특별한 촉매없이 높은 온도와 압력에 의해서만 이루어지기 때문에 결정성 cellulose 같이 강력한 조직구조를 분해하는 것은 쉽지 않다고 여겨지며, 따라서 버섯 재배시 발생할 것으로 예상되는 균에 의한 조직 분해가 전처리 과정으로서 작용하게 되어 폐골목의 수율이 더 높게 나타난 것으로 사료된다.

3.5 분해 산물 분석

수용성 부분에 대하여 ethyl-acetate를 이용하여 분획을 실시하고, ethyl-acetate 가용부에 대하여 GC/MS를 이용하여 분석한 결과, 모든 반응 조건에서 1,1'-oxybis-benzene과 1,2-benzendicarboxylic acid, diisooctyl ester가 확인되었고, 당화 수율이 낮았던 반응 조건에서 pentadecanoic acid, 14-methyl-heptadecanoic acid 등과 같은 fatty acid류가 공통적으로 확인되었다. 반응 온도의 상승 및 시간의 증가에 따른 phenol, benzene류와 같은 분해 산물의 종류가 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 이러한 경향은 분해율의 증가와 일치하였다. 그러나 반응 압력은 반응 시간과 온도에 비해 큰 영향을 미치지 못하는 것이 확인되었다.



[그림34] 반응온도 증가(335°C→375°C)에 따른 수용성 부분의 GC/MS chromatogram (@60초, 23MPa)

3.6. 비수용성 부분 내 holocellulose 및 lignin 함량

비수용성 부분 내에 잔존하는 holocellulose 함량과 lignin 함량에 대한 분석을 실시한 결과, 각각 60.6~79.2%, 22.7~38.0%의 범위를 나타내었다. 결과에서 확인된 높은 holocellulose 함량은 공정 개선 또는 추가적인 처리 과정에 의한 당화 수율 향상의 가능성을 확인시켜주었다.

3.7 산 가수분해에 의한 비수용성 부분의 당화

초임계수 가수분해에 의한 낮은 당화 수율의 증진 가능성 확인을 위해서 각각의 비수용성 부분에 대하여 산 가수분해를 실시한 후 단당류 분석을 실시한 결과 당화 수율은 49%에서 67.48%의 범위를 나타내었다. 특히 glucose의 당화 수율이 큰 폭으로 증가하였는데 이러한 결과를 통해 본 연구에서 실시한 초임계수에 의한 가수분해는 cellulose에 대한 가수분해보다 분해가 용이한 hemicellulose에서 주로 일어났다는 것을 확인할 수 있었다. 확인된 잔사의 높은 산 당화 수율은 초임계수 가수분해에 의한 당화 수율 향상의 가능성을 확인시켜주었지만 수율 향상을 위한 공정 및 반응 조건 개선에 대한 연구가 필요할 것으로 생각되었다. 또한 산 가수분해에 의한 잔사의 산 당화 수율은 잔사 내 존재하는 holocellulose 함량의 결과와 유사한 경향을 보여주었다.

3.8 수용성 부분에 대한 추가 산처리

약산을 이용하여 수용성 부분에 대하여 추가 산처리를 실시한 후 단당류 정량 분석을 실시한 결과 2.8%~10.3%로 처리전에 비해 큰 폭으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 높은 반응 압력의 조건을 갖고 있는 수용성 부분의 당화 수율이 큰 폭으로 증가하여, 새로운 전처리 방법으로 초임계수를 이용할 경우 높은 반응 압력은 필수적인 조건으로 생각되었다. 또한 이상의 결과로 당화 수율 향상의 가능성을 확인할 수 있었다.

4. 참고 문헌

- 김남훈, 이원용. 1994. 표고버섯골목의 재활용에 관한 연구(I). 목재공학, 22(3) : 26-31
- 구본욱, 박준영, 이수민, 최돈하, 최인규. 2005. 표고버섯 골목의 사용연수에 따른 화학적, 물리적 성상 및 폭쇄처리 후 변화 관찰. 목재공학, 33(1) : 77-86
- Saka, S. and T. Ueno. 1999. Chemical conversion of various celluloses to glucose and its derivatives in supercritical water. Cellulose, 6 : 177-191

- Sasaki, M., B. Kabyemela, R. Malaluan, S. Hirose, N. Takeda, T. Adschiri and K. Arai. 1998. Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water. *Journal of Supercritical Fluids*, 13 : 261-268
- Wang, M., C. Saricks and D. Santini. 1999. Effects of Fuel ethanol use on fuel-cycle energy and greenhouse gas emissions. Argonne National Laboratory, Argonne, IL.