

일년생 바이오매스(옥수수 줄기, 담배 줄기, 대마 목부)의 암모니아 침지 전처리가 효소 당화에 미치는 영향

*신 수정¹⁾(*주 저자), 유 주현²⁾, **박 종문³⁾(**교신저자)

Enhancing Enzymatic Saccharification by Aqueous Ammonia Soaking Pretreatment on Several annual plants

*Soo-Jeong Shin, Ju-Hyun Yu, **Jong-Moon Park

Key words : aqueous ammonia soaking (암모니아수 침지 처리), lignocellulosic biomass (목질계 바이오매스), annual plant (초본류), enzymatic saccharification (효소당화), cellulose (셀룰로오스), xylan (자이란), corn stover (옥수수 줄기), tobacco stalk (담배 줄기), hemp woody core (대마 목부)

Abstract : Effects of aqueous ammonia soaking to three annual plants (hemp woody core, tobacco stalk and corn stover) were investigated to focus on the enzymatic saccharification characteristics change by this treatment. At two different levels of treatment (90°C-16 h and 45°C-6 days), higher temperature treatment led to more enzymatic saccharification of cellulose to glucose by commercial cellulase mixtures (Celluclast 1.5L and Novozym 342 from Novozyme Korea).

Difference among annual plants were significant. corn stover was the best response to enzymatic saccharification of cellulose and xylan by commercial enzymes all treatment conditions but tobacco stalk was the worst response to all of them. chemical composition or physical structure difference may brought this difference.

1. 서론

지속 공급 가능한 에너지원에 대한 관심이 커지면서 목질계 바이오매스 자원에 대한 관심도 증폭되고 있다. 목질 바이오매스 자원은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌을 주성분으로 구성되어 있는데 이중 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스는 단당류의 탈수 축합에 의하여 생성된 고분자 물질들이다. 효과적으로 이들 고분자를 당화 시킨다면 발효 공정을 통하여 다양한 석유화학 대체 물질들을 생산할 수 있다.

그러나 목질계 바이오매스 자원은 효소 당화의 경우 전분계 자원에 비하여 당화율이 낮다는 단점을 가지고 있다. 이는 셀룰로오스와 함께 존재하는 주 성분인 헤미셀룰로오스와 리그닌이 치밀하게 결합하고 있어 효소의 접근을 방해하기

때문이다. 적절한 전처리 기술을 통하여 이를 극복할 수 있다.^{1),2)} 암모니아 폭쇄 처리로 리그닌의 용해도가 증가하고, 헤미셀룰로오스가 가수분해되면 셀룰로오스의 결정성이 감소하여 셀룰로오스 분해 효소의 접근성을 증가시켜 가수분해가 촉진된다.³⁾ 암모니아 침지법은 바이오매스를 암모니아 수용액에 침지하여 가용성 리그닌과 자이란을 용출시키는 공정이다.⁴⁾

본 연구에서는 몇가지 초본류와 활엽수 목질계

-
- 1) 충북대학교 농업생명환경대학 목재종이과학과
E-mail : soojeongesf@hotmail.com
Tel : (0105530-1083 Fax : (043)273-2241
 - 2) 한국화학연구원 산업바이오센터
E-mail : jhyu@kriict.re.kr
Tel : (02)123-4567 Fax : (02)123-9876
 - 3) 충북대학교 농업생명환경대학 목재종이과학과
E-mail : jmpark@cbu.ac.kr
Tel : (043)261-3200 Fax : (043)273-2241

바이오매스의 암모니아 침지처리에 따른 효소가 수분해 촉진효과를 고찰하고자 하였다. 암모니아 침지의 온도와 시간을 달리하여 두가지 변수가 효소당화에 미치는 영향을 주로 고찰하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

옥수수 줄기는 충북 청원군 남이면 농가에서 2008년 4월 과중하여 7월 열매 수확 후 밭에 버려진 것을 8월 7일 절단하였다. 대마 목부는 충남 당진군 농업기술센터에서 분양 받은 시료를 사용하였다. 4월 과중하여 7월 15일 수확 후 인피 섬유를 제거한 목부를 공기 중에서 2주간 건조 하였다. 담배 줄기는 충북대학교 농장에서 2007년 8월 20일 절단 후 2주간 공기 중에서 건조한 다음 분쇄하였다.

2.2 실험 방법

2.2.1 재료의 화학적 조성 분석

시료 분말을 아세톤과 끓는 물로 아세톤 추출물과 끓는 물 추출물 함량을 측정하였고 추출된 고형분으로 Klason 리그닌 함량과 탄수화물 조성을 정량하였다. 암모니아 침지 전과 후 질량 수지를 계산하여 암모니아 침지 처리에 의한 리그닌과 다당류 탄수화물의 용출 정도를 추정하였다.

2.2.2 암모니아 침지 처리

시약용 암모니아수 (30%, w/w)를 증류수로 희석하여 15%의 암모니아수를 만든 후 목분 2.5g에 대하여 15% 암모니아수 45ml를 첨가한 다음 밀봉하여 반응을 진행시켰다. 온도와 침지 시간의 영향을 확인하기 위하여 45 °C 침지 처리는 6일간 90 °C 침지 처리는 16 시간 실시하였다. 처리 후 여과 세척하여 암모니아수에 의해 용출된 성분을 제거하고 남은 고형분을 상온에서 대기 중에서 건조시킨 다음 조성을 분석하였다.

2.2.3 효소 가수분해

암모니아 수용액 침지 처리에서 얻은 전처리 잔사물을 0.05M sodium acetate 완충용액 170 ml를 가한 다음 121°C에서 멸균 처리 후 상온에서 식힌 후 45 °C가 유지 되는 교반 반응기에 넣고 온도가 평형에 도달한 다음 Celluclast 1.5L 0.8ml와 Novozym 342, 0.2ml를 첨가한 후 진탕에서 효소 가수분해를 실시하였다.

2.2.4 효소 당화액 분석

당용액 200 µL를 900 µL의 acetonitrile과 증류수 혼합용액 (5:5 v/v)으로 희석한 다음, 원심 분리하여 침전물을 제거하고 나서 당분석에 사용하였다. ELSD (evaporative light scattering detector, Alltech model ELSD 2000; Tube temp. 80°C, gas flow 2.0 L/min, gain 4) 조건으로 당을 검출하였고,

HPLC에서 용매의 농도를 일정하게 유지하였고, apHera™NH₂column(4.6mm i.d.×250 mm, SUPELCO)을 사용하였으며 이동상은 acetonitril/증류수 혼합액 (80:20 v/v)을 사용하였고 유속은 1.2 mL/min을 유지하였다. 이때 보류 시간은 xylose가 7.9분에서 glucose가 12.0분에서 각각 검출되었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 재료에 따른 화학적 조성의 차이

일년생 초본류내에서 바이오매스의 종류에 따라서 열수 추출물, 리그닌, 탄수화물 함량에서 큰 차이를 보였다. 옥수수 줄기의 경우 단위 무게내 탄수화물의 함량이 가장 낮았고 열수 추출물 함량이 높았다. 이는 광합성 대사물의 상당부분이 셀룰로오스나 리그닌으로 대사 전이가 일어나지 않았기 때문으로 생각된다. 대마 목부가 리그닌이 함량과 탄수화물의 함량이 높아서 활엽수와 유사한 화학적 조성을 보였다.

Table 1. Chemical composition of hemp woody core, tobacco stalk and corn stover

	A*(%)	H*(%)	L*(%)	P*(%)
Hemp woody core	0.8	10.4	17.2	71.6
Tobacco stalk	0.3	16.0	13.3	70.4
Corn stover	1.0	23.3	13.6	62.1

A: acetone-solubles

H: hot-water solubles

L: Klason lignin

P: polysaccharides (P=100-A-H-L)

3.2 암모니아수 침지 온도와 시간에 따른 셀룰로오스의 효소당화 특성 비교

셀룰로오스의 글루코스 전환율은 잔사내 존재하는 전체 셀룰로오스가 포도당으로 전환되는 것으로 기준으로 그에 대한 백분율로 계산하였다. 셀룰로오스내의 탈수 축합 형태로 존재하고 효소 가수분해에 의하여 글루코스 형태로 존재하기 때문에 이에 대한 보정을 실시하였다.

전환율 = $\frac{\text{글루코스 전환량} \times 152 \times 100}{(\text{셀룰로오스 량} \times 180)}$

전반적으로 옥수수줄기의 셀룰로오스에서 단당류 전환율이 높았으며 담배 줄기의 경우가 가장 낮았다. 3가지 다른 시료의 단당류 전환율 차이는 화학적 조성의 차이나 물리적 구조의 차이에서 기인할 것으로 생각된다. 50°C에서 6일 암모니아수 침지 처리보다는

90℃에서 16시간 처리가 3가지 시료에서 모두 더 높은 글루코스 전환율을 보였다.

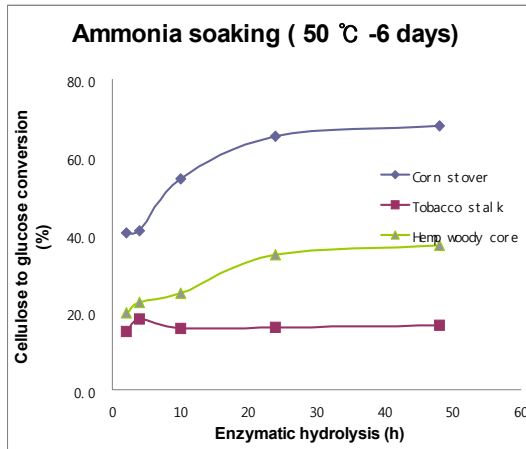


Fig. 1. Cellulose to glucose conversion by aqueous ammonia soaked (50℃, 6 days) followed enzymatic hydrolysis.

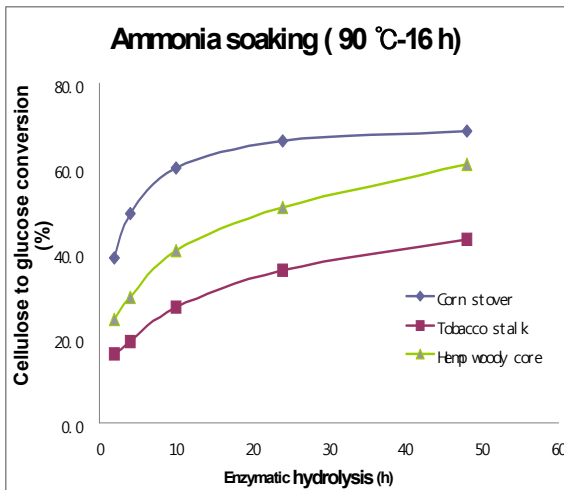


Fig. 2. Cellulose to glucose conversion by aqueous ammonia soaked (90℃, 16 h) followed enzymatic hydrolysis.

3.3 암모니아수 침지 온도와 시간에 따른 자이란의 효소당화 특성 비교

자이란의 전환율은 탈수 축합 형태로 존재하는 자이란의 가수분해에 의하여 자일로스가 생성되기 때문에 아래와 같은 식에 의하여 전환율을 계산하였다.

$$\text{전환율} = \frac{\text{자일로스 전환량} \times 132 \times 100}{\text{자이란 량} \times 150}$$

전반적으로 셀룰로오스의 글루코스

전환율과 비슷한 경향을 보였다. 옥수수줄기의 전환율이 높았으며 담배 줄기의 경우가 가장 낮았다. 50℃에서 6일 암모니아수 침지 처리보다는 90℃에서 16시간 처리가 3가지 시료에서 모두 더 높은 전환율을 보였다. 담배 줄기와 옥수수줄기에서는 자이란의 단당류 전환율이 셀룰로오스에 비하여 낮게 나타났다.

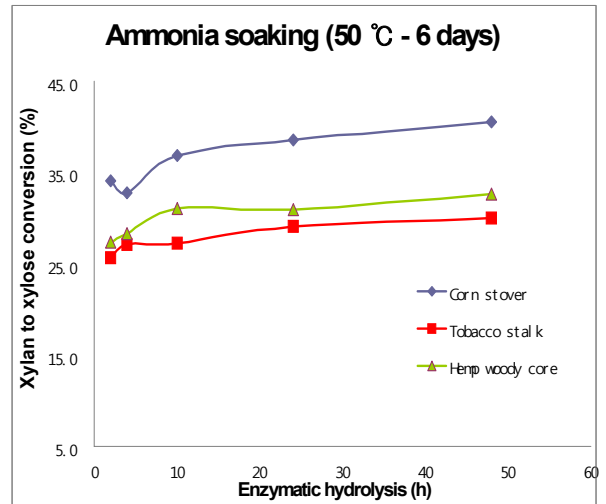


Fig. 3. Xylan to xylose conversion by aqueous ammonia soaked (50℃, 6 days) followed enzymatic hydrolysis.

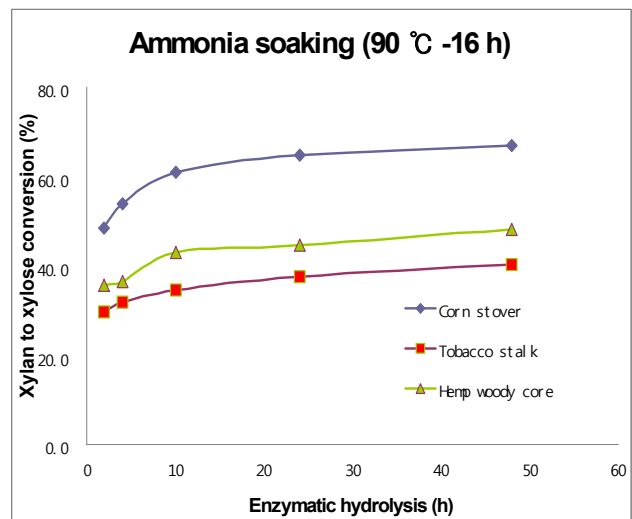


Fig. 4. Xylan to xylose conversion by aqueous ammonia soaked (90℃, 16 h) followed enzymatic hydrolysis.

4. 결론

대마 목부, 옥수수 줄기, 담배 줄기 바이오매스의 화학적 조성과 암모니아수 침지 전처리후 효소당화에 의한 셀룰로오스와 자이란의 단당 전환을 조사하였다. 옥수수 줄기의 경우 23.3%의 열수 추출물을 포함하여 대마 목부나 담배줄기의 10.4%나 16.0% 보다 높은 열수 추출물 함유를 보였다. 리그닌 함량은 대마 목부가 17.2%로 담배 줄기나 옥수수 줄기의 13.3%나 13.6% 보다 높게 나타났다. 다당류 함량은 대마 목부가 71.6%로 가장 높았고 담배 줄기는 70.4%, 그리고 옥수수 줄기는 62.1%를 나타냈다.

암모니아수 침지 처리후 상업용 셀룰라아제에 효소 당화에서 저온 장시간 침지 처리 보다는 고온 단시간 처리가 더 효과가 높았다. 바이오매스 종류 중에는 옥수수 줄기의 효소 당화율이 뛰어났으며 담배 줄기의 당화가 가장 낮았다. 이에 대한 연구는 계속 진행되어야 한다.

후기

본 연구는 학술진흥재단 2007년도 지역대학 우수 과학자 지원사업 (F00023)의 일환으로 수행되었습니다.

References

- [1] Hemdriks, A.T.W.M and Zeeman, G., 2008, "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass," Bioreour. Technol. Vol. 100, pp.10-18, 2008.
- [2] Sun, Y. and Cheng, J., 2002, "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production; a review," Bioresour. Technol. Vol. 83, pp. 1-11, 2002.
- [3] Teymourin, F., Laureano-Perez, L., Alizadeh, H. and Dale, B.E., 2005, Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover," Bioreour. Technol. Vol. 96, pp. 2014-2018, 2005.
- [4] Kim, T.H. and Lee, Y.Y., 2007, Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia at moderate temperatures," Appl. Biochem. Biotechnol. Vol. 137-140, pp.81-92, 2007.
- [5] 신수정, 유주현, 조남석, 최인규, 김문성, 박종문, 2009, "암모니아수 침지처리가 백합나무 (*Liriodendron tulipifera* L.)의 화학적 조성변화와 효소당화에 미치는 영향," 펄프·종이기술, Vol. 41, No. 1, pp. 61-66