

## 물로 가수분해된 섬유성 기질로부터 hemicellulose 회수

† 김성배 · 김창준

경상대학교 공대 생명화학공학과 및 공학원  
(접수 : 2005. 6. 14., 게재승인 : 2005. 8. 25.)

## Hemicellulose Recovery from Lignocellulosic Material Hydrolyzed by Water

Sung Bae Kim† and Chang Joon Kim

Department of Chemical & Biological Engineering and ERI,  
Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

(Received : 2005. 6. 14., Accepted : 2005. 8. 25.)

Various recovery methods were investigated to maximize hemicellulose recovery from lignocellulosic material hydrolyzed by pure water. The pretreatment conditions of water hydrolysis were 170~180°C and 1 hour of reaction time. The percentage of hemicellulose solubilized increased as the temperature increased from 170 to 180°C. However, significant decomposition of sugar was observed at temperature of 180°C. From the results of water hydrolysis, the total amount of glucan in solid residue and liquid hydrolyzate was close to the total glucan in the original biomass. For hemicellulose, however, there was a significant difference between both contents. To prove this difference, various recovery methods were proposed. From the total sugar accountability (sugar in liquid + sugar in solid), it was confirmed that hemicellulose recovery in the hydrolyzate was increased if the product including both hydrolyzate and solid residue was physically stimulated by such as heating and ultrasound irradiation. This indicated that, in commercial scale processes that much bigger substrate sizes are used and a sufficient amount of leaching solvent can not be used after pretreatment, a significant amount of oligomers could be trapped in the solid matrix.

**Key Words** : Hemicellulose, hemicellulose recovery, water hydrolysis, lignocellulosic material

### 서론

헤미셀룰로오스는 섬유성 기질을 구성하는 세가지 주요 성분중의 하나이고 중합도가 약 200 정도인 고분자물질이다. 분자구조는 xylan, arabinan 등의 5탄당 중합체와 mannan, galactan 등의 6탄당 중합체를 골격으로 methoxyl기, acetyl기와 uronic acid 등이 결합된 무정형구조로 구성되어 있다(1). 그러나 헤미셀룰로오스의 분자구조는 기질에 따라 이들 성분들의 비율이 상당히 다르게 결합되어 있어 정확한 구조는 알기 어렵다.

산 촉매에 의한 헤미셀룰로오스의 가수분해 반응은 어

떤 일정한 규칙 하에서 일어나지 않으므로 여러 다른 크기의 분자량을 가진 생성물이 생긴다. 일반적으로 헤미셀룰로오스가 가수분해되면 먼저 올리고당이 생기고 생긴 올리고당은 다시 단당류로 가수분해되고, 단당류 또한 분해되어 furfural을 포함한 여러 종류의 저분자물질로 바뀐다. 이 때 중간물질로 생긴 올리고당은 여러 중합도를 가진 물질이어서 이들의 반응속도는 중합도에 따라 달라지고 비환원 말단기에서 반응속도는 다른 결합보다 더 큰 것으로 알려져 있다(2). 생긴 올리고당의 중합도와 양은 사용한 반응조건에 따라 좌우되고, 특히 반응조건 중 산농도가 낮을수록 많이 생기는 것으로 알려져 있다(3-5). 섬유성 기질은 견고한 조직으로 되어 있기 때문에 기질 내 가장 많이 포함된 셀룰로오스를 효소 가수분해하기 위해서는 효소반응이 쉽게 일어나도록 기질을 전처리해 주는 과정이 꼭 필요하다. 최근 섬유성기질로부터 알콜 생산과제를 주도하고 있는 미국 국립재생에너지연구소 (NREL)에서는 전처리시 산 사용량을 줄이기 위해 산 농도 (1% 이하)를

† Corresponding Author : Department of Chemical & Biological Engineering, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

Tel : +82-55-751-5385, Fax : +82-55-753-1806

E-mail : sb\_kim@gsnu.ac.kr

최대한 낮추고 대신 반응온도(160~200°C)를 높이는 방법을 채택하고 있다(6-8). 또한 산이 필요없고 산에 의한 장치의 부식을 상당히 줄일 수 있는 장점 때문에 물을 사용하여 섬유성 기질을 전처리하는 방법이 다시 각광을 받고 있다(9). 이런 방법들은 필연적으로 많은 양의 헤미셀룰로오스 올리고당을 생산한다.

전처리 후 올리고당을 포함해 액상으로 용해된 모든 당을 회수하기 위해서는 반응이 끝난 후 회분식반응기의 경우는 다량의 물을 사용하여 고체 기공 내 포함된 올리고당이 침출되도록 충분히 방치한 후 당화액을 회수한다. Percolation 반응기에서는 반응 후 충분한 양의 물을 흘려당을 침출한 후 수집한 당화액을 회수한다. 이들 경우 반응 후 사용한 기질 양의 5-10배 정도의 물을 사용하여 고체 기공에 포함된 당을 회수해야 하는데, 문제는 많은 양의 물을 사용하면 고체 기공에 존재하는 거의 모든 당들을 회수할 수 있겠지만 수집된 당화액의 농도가 상대적으로 낮아 다음 공정인 발효공정에서 다시 당을 농축하는 공정이 필요하다. 전처리 후 당화액과 고체 기질을 분석하면 당화액에 존재하는 헤미셀룰로오스 양과 고체기질에 남아있는 헤미셀룰로오스 양의 합이 초기 기질에 존재하는 헤미셀룰로오스 양에 근접해야하나 경우에 따라서 상당한 차이가 난다는 문제점이 발견된다. 특히 올리고당이 많이 생기는 조건에서 이런 현상이 심한데 올리고당이 단당보다 상대적으로 분자량이 커서 고체기공으로부터 쉽게 빠져나오지 못하고 갇혀 있을 수 있기 때문인 것으로 생각된다. 이와 같은 현상은 저농도의 황산과 물을 사용하는 percolation 반응기에서도 확인된 바 있다(10, 11). 현재 사용되는 알콜 발효균주로는 xylose와 glucose를 동시에 발효할 수 없기 때문에 전처리 후 고체기공에 포함된 xylose를 최대한 회수하는 것이 섬유성기질로부터 알콜 수율을 높일 수 있는 중요한 인자이다. 그리고 상업화 공정 같은 큰 규모의 전처리 공정에서는 사용하는 기질이 크고 전처리 후 헤미셀룰로오스 회수를 위해 많은 용매를 사용할 수 없기 때문에 이런 연구 결과가 대단히 중요하다고 생각한다. 이와 같은 현상을 규명하기 위해 올리고당이 많이 생길 수 있는 방법으로 물만 사용하여 헤미셀룰로오스를 가수분해한 후 회수방법에 따른 헤미셀룰로오스의 회수율을 비교 검토하여 고체기공 내 남아있는 당의 회수 가능성에 대해 조사하고자 하였다. 여기서 옥수수 혼합물에 포함된 헤미셀룰로오스의 약 80%가 xylan이고 xylan이외의 다른 당들은 상대적으로 쉽게 분해되기 때문에 xylan을 헤미셀룰로오스의 대표 물질로 사용하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

시료는 옥수수의 줄기, 잎과 속대의 혼합물이며 Wiley mill을 사용하여 분쇄한 후, 2 mm를 통과하고 60 mesh 체에 걸리는 시료를 사용하였다.

### 가수분해 반응실험

가수분해 반응은 내경이 1.1 cm이고 길이가 14 cm인 플

랜지형 stainless steel 반응기를 사용하였다. 이 반응기에 수분이 8% 포함된 시료를 2 g 충전한 후 물을 9 g 넣어 하루밤 동안 방치한 후 고온건조기에서 반응시켰다. 원하는 반응온도에 도달하는 시간은 약 15분정도 소요되었다. 반응 후 20 mL의 물로 반응기를 씻어내고 적당한 방법으로 남아있는 고체기질에 포함된 당을 침출한 후 4,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액의 일부는 2차 가수분해용으로 사용하였다. 남은 고체기질은 건조 후 고체시료 당함량과 리그닌함량 결정방법(12)에 따라 성분을 분석하였다.

### 고체시료 당함량

수분함량을 측정할 약 0.3 g의 시료를 시험관에 넣고 72% 황산 (비중 1.64) 3 mL를 주입한 다음 때때로 저어주면서 2시간 동안 30°C의 항온조에 방치하고, 이것을 100 mL 병에 다시 옮겨 담고 84 mL의 증류수를 가하여 4% 황산용액이 되게 한 다음 121°C autoclave에서 45분간 반응하였다. 반응 중 분해되는 당의 양을 보정하기 위해 시약급 glucose와 xylose도 위 순서로 함께 반응하였다. 반응 후 식힌 시료는 4,500과 15,000 rpm으로 두 번 원심 분리한 후 HPLC로 분석하였다.

### 리그닌과 ash 함량 결정

수분함량을 측정할 시료 약 1 g을 시험관에 넣은 다음 72% 황산 (비중 1.64) 15 mL를 주입하고, 때때로 저어주면서 2시간 동안 실온에 방치하였다. 정해진 시간이 되면 1 L 플라스크에 시료를 옮겨 담고, 560 mL의 증류수를 가하여 3% 황산용액이 되게 한 후 환류냉각기를 설치하여 4시간동안 가열하였다. 이것은 남아있는 고체 내에 잔류한 당을 추출하기 위한 것인데, 가열이 끝나면 시료를 여과하고 105 ± 3°C 건조기에서 12시간 이상 건조시킨 후 남은 무게를 계산하여 리그닌 함량을 측정하였다. 그리고 ash 함량은 약 1 g의 시료를 575 ± 3°C의 전기로에서 3시간 이상 가열하여 남은 무게를 계산하여 측정하였다.

### 2차 가수분해

1차 가수분해에서 생성된 당의 대부분은 올리고당 형태이어서 이들을 직접 HPLC로 정량 분석하기는 어렵다. 그래서 올리고당을 단당으로 전환하여 분석하기 위하여 전처리 후 얻은 당화액에 포함된 올리고당을 다음과 같이 가수분해하였다. 1차 가수분해 후 원심분리하여 따로 분리해둔 상등액 3 mL를 Pyrex glass tube에 넣고, 이 용액의 황산농도를 4%로 만들기 위해 30% 황산을 적당량 첨가한 후 연료가스로 유리관 끝을 녹여 밀봉하였다. 반응은 121°C autoclave에서 45분간 반응시키고 4,500과 15,000 rpm에서 두 번 원심 분리한 후 HPLC로 분석하였다. 이때 1차 가수분해시 생성된 당이 autoclave 반응시 분해되는 정도를 보정하기 위해 시약급 glucose와 xylose 0.3% (w/v) 용액도 같은 방법으로 반응시켰다.

### 반응 후 고체기질에 남아있는 xmg (xylan+mannan+galactan)

가수분해 반응 후 고체기질에 남아있는 xmg의 농도를

알기위해 1차 가수분해를 하고 남은 고체기질을  $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  건조기에서 하루 동안 건조시켜 무게를 잰 다음 처음 사용한 시료 무게에 대한 남아있는 시료 무게의 비율 (% solid remaining)을 계산하고, 이 중 0.3 g을 채취하여 시험관에 넣고 앞서 설명한 고체시료 당함량 결정 절차에 따라 고체기질에 포함된 당 함량을 측정하였다.

### HPLC 분석

본 연구에서 사용한 column은 Bio-Rad회사의 Aminex HPX-87H과 87P로 87P column으로는 xylose, mannose, galactose가 분리되지만 87H column으로는 분리되지 않아 이들 세성분을 합하여 xmg (xylan+mannan+galactan)로 표기하였다. xmg 양은 초기시료에 포함된 이들 세성분의 90% 이상이 xylose이기 때문에 xylose를 standard로 사용하여 분석한 후 보정인자 0.88 (=132/150)을 곱하여 xylan으로 계산하였다. 시료 내에 포함되어있는 당의 농도측정을 위해 4,500과 15,000 rpm으로 두번 원심분리하여 HPLC (Waters, Shodex RI detector, 0.6 mL/min)로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 물 가수분해

헤미셀룰로오스의 분자구조는 무정형이고 셀룰로오스로 구성된 미세섬유의 외곽을 둘러싸고 있어 산 같은 가수분해 촉매가 쉽게 접근할 수 있다. 그래서 일부를 제외하고 비교적 쉽게 가수분해될 수 있어 높은 온도의 물이나 수증기 하에서도 가수분해된다. 이 경우 외부에서 산을 주입하지 않아도 헤미셀룰로오스를 구성하는 골격에 붙어있는 acetyl기와 methoxyl기가 유리되어 acetic acid나 formic acid와 같은 유기산이 촉매 역할을 한다(1). 이들 산에 의해 야기된 산성도는 기질에 따라 약간 차이는 있지만 목질계 기질의 경우 pH가 3~4의 범위에 있다. 그래서 물을 사용한 회분식반응기에서는 초기에는 산이 거의 유리되지 않은 상태이므로 가수분해속도는 낮은 유기산 농도로 인하여 비교적 느린 것으로 알려져 있다(13).

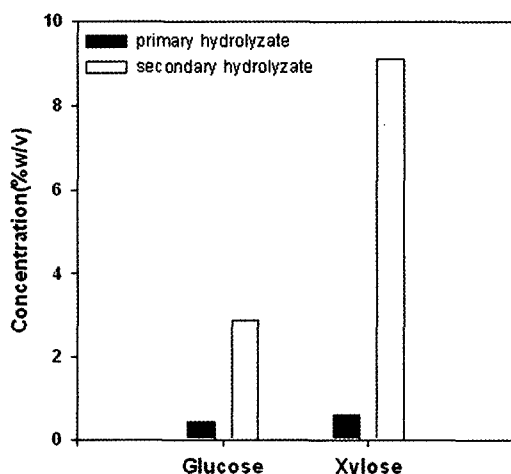


Figure 1. The compositions of primary and secondary hydrolyzates from water hydrolysis (reaction condition :  $170^{\circ}\text{C}$ , 1 hour).

옥수수혼합물을  $170^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간동안 반응시킨 후 얻은 당화액의 pH는 약 4.1이었으며, 당화액을 2차 가수분해시켜 측정한 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 1차 당화액에 포함된 glucose의 약 84%, xylose의 약 93%가 올리고당인 것으로 밝혀졌다. 섬유성 기질의 주요 구성성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌이 물과 반응하여 일어나는 화학변화는 주로 온도와 반응시간에 의존한다. 그래서 반응시간을 1시간으로 고정하고 반응온도를  $170\sim 180^{\circ}\text{C}$  범위에서 실험하였다.

Table 1은 전처리 후 남아있는 고체기질의 조성을 나타낸 표이다. 온도의 증가에 따라 고체기질에 남아있는 xylan은 상당히 감소하였다. 고체기질에 남아있는 xylan양은 초기함량의 12~37%, glucan은 76~88%로 xylan의 경우 물만으로도 쉽게 가수분해됨을 알 수 있으나 glucan의 경우는 이 조건에서 쉽게 가수분해될 수 없음을 알 수 있다. 물을 사용한 가수분해반응에서 실질적인 촉매는 acetic acid와 같은 유기산이므로 온도증가에 따라 기질로부터 유리된 acetic acid양이 증가하는 것을 알 수 있고(Table 2), 이러한 증가가 결과적으로 반응 후 남아 있는 고체무게 (solid remaining)에 영향을 미치는 것으로 생각할 수 있다. Klason lignin의 경우도 glucan과 같이 온도의 증가에 따라 액상으로 용출된 양이 약간 증가하였으나  $180^{\circ}\text{C}$ 에서도 용출된 리그닌은 전체 리그닌의 약 7%로 절대량은 크지 않았다. 같은 기질을 사용한 경우 암모니아 수용액에서는 리그닌이 50% 이상 제거되는 것과 비교할 때 물을 사용한 가수분해 방법에서는 아주 작은 양의 리그닌이 제거되는 것을 알 수 있다(14). Arabinan, galactan과 mannan의 경우는 고체시료에 남아있는 양이 HPLC로 측정할 수 없을 정도로 작아서 거의 모두 가수분해되었음을 알 수 있다.

Table 2는 전처리 후 회수된 당화액의 조성을 나타낸 표이다. 당화액에 회수된 각 당은 monomer 형태로 측정되지만 고체상에 남아있는 당과 비교하기 위하여 polymer 형태로 계산하여 표시하였다. 온도의 증가에 따라 액상으로 회수된 xylose 값은 증가하였으나  $180^{\circ}\text{C}$ 에서는 오히려 크게 감소하였다. Xylan의 경우 온도의 증가에 따라 분해정도가 급격히 증가하는데, 이것은 Table 2에 나타난 바와 같이 furfural 양이  $180^{\circ}\text{C}$ 에서  $175^{\circ}\text{C}$ 의 경우보다 약 2배정도 증가한 사실로부터 간접적으로 알 수 있다. Xylose가 분해되면 furfural을 포함한 여러 분해물질이 생기므로 생긴 furfural 양만 보고 xylose가 어느 정도 분해되었는지 직접적으로 알 수는 없고 다만 xylose 분해정도의 간접적인 지표로 활용할 수 있다(5). Glucan, arabinan, galactan과 mannan도 액상에서 회수되는 양과 고체기질에 남아있는 양 모두 감소하는 경향을 보여 온도의 증가에 따라 액상으로 용해된 단당의 분해정도가 증가됨을 짐작할 수 있다. 위의 결과로부터  $180^{\circ}\text{C}$ 에서는 가수분해로 생긴 많은 xylose가 분해되기 때문에 전처리 조건에서 제외하였다.

### 헤미셀룰로오스 회수방법

Table 1과 2에 나타난 각 성분의 양을 더하여 처리되지 않은 기질에 포함된 같은 성분의 양, 즉 초기 양과 비교하면 두 값이 거의 같아야 하지만 성분에 따라 상당한 차이

**Table 1.** Effect of pretreatment temperature on the composition of solid residue after pure water hydrolysis of corn stover/cobs mixture (pretreatment conditions : 1 hour, solid : liquid = 1 : 4.5)

pretreatment temperature	Solid remaining (%)	xylan (%)	glucan (%)	k. lignin* (%)	arabinan (%)	galactan (%)	mannan (%)
untreated	100.0	20.00	38.10	16.03	3.10	1.20	0.60
170°C	63.5	7.43	33.50	15.74	trace	trace	trace
175°C	60.0	5.59	33.00	15.49	trace	trace	trace
180°C	58.4	2.50	29.10	14.94	trace	trace	trace

All sugar contents are based on oven-dry untreated biomass.

\* klason lignin

**Table 2.** Effect of pretreatment temperature on the composition corn of stover/cobs mixture hydrolyzates by pure water hydrolysis (pretreatment conditions : 1 hour, solid : liquid = 1 : 4.5, secondary hydrolysis : 121°C, 45min, 4% sulfuric acid)

pretreatment temperature	xylan (%)	glucan (%)	arabinan (%)	galactan (%)	mannan (%)	furfural* (%)	HMF* (%)	acetic acid* (%)
170°C	8.19	2.88	1.12	0.48	0.54	0.39	0.08	1.75
175°C	9.70	2.55	0.69	0.43	0.25	0.88	0.10	2.05
180°C	5.95	2.15	0.37	0.31	0.23	1.56	0.10	2.54

All sugar contents are calculated after secondary hydrolysis based on oven-dry untreated biomass and expressed as xylan, glucan, arabinan, galactan, mannan equivalents.

\* values from primary hydrolyzates

**Table 3.** Various hemicellulose recovery methods of sugars from solid residue

exp. no.	method
1, 2, 8	discharge → equilibrium for 2 hrs at room temp.
3, 9	discharge → equilibrium for 1 hr at room temp. → autoclave for 45 min
4	discharge → equilibrium for 1 hr at room temp. → autoclave for 2 hrs
5	170°C, 1 hr → 121°C, 45 min → discharge → equilibrium for 2 hrs
6	discharge → ultrasound for 45 min at room temp.
7	discharge → add sulfuric acid to make 4% acid solution including solid residue and autoclave for 45 min
10	175°C, 1 hr → 121°C, 45 min → discharge → equilibrium for 2 hrs

를 나타낸다. Glucan의 경우 액상과 고상에 남아있는 양을 더하면 초기양의 90% 이상이 되어 비교적 물질수지가 잘 맞는다고 생각할 수 있다. 그러나 헤미셀룰로오스 (여기서는 xylan, mannan, galactan과 arabinan의 합)의 경우는 액상과 고상에 남아있는 양을 모두 더하면 170°C의 경우 초기양의 약 70%에 불과하다. 그렇다고 이 차이에 해당하는 양이 모두 분해되었다고 생각하기에는 검출된 furfural양을 고려해 보아도 너무 많은 양이라고 생각된다. 이러한 차이를 나타내는 원인 중 하나로 물 가수분해로 생긴 대부분의 올리고당이 고체기공으로부터 쉽게 빠져 나올 수 없기 때문으로 생각할 수 있다. 그래서 고체기공으로부터 올리고당을 포함한 모든 당을 액상으로 침출해낼 수 있는 여러 가지 방법을 Table 3에 나타난 바와 같이 고안하였다.

Exp. 1, 2, 8은 원하는 온도에서 전처리 후 남은 고체 기질과 당화액을 반응기로부터 제거한 후 20 mL의 물로 반응기를 씻고 조심스럽게 혼합시킨다. 그리고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 원심분리하여 상등액을 분리해 내는 방법이다. 상등액은 2차 가수분해하여 당농도를 측정하였다. Exp. 3, 9는 Exp. 1과 같은 방법으로 고체와 액체가 포함된 생성물을 얻은 후 실온에서 1시간동안 방치하고 다시 121°C (autoclave)에서 45분간 가열한 후 원심분리하여 당화액을 분리하는 방법이다. Exp. 4는 Exp. 3과 동일한데 121°C에서 2시간동안 유지하는 방법이다. Exp. 5는 170°C에서 1시간 전처리한 후 생성물을 반응기에 그대로 두고 121°C에서 45분

간 가열한 후 반응기에서 내용물을 제거하여 2시간동안 실온에 방치하는 방법이고, Exp. 6은 Exp. 1과 같은 방법으로 생성물을 얻은 후 생성물을 실온에서 45분간 초음파를 조사하는 방법이다. Exp. 7은 Exp. 1과 같은 방법으로 생성물을 얻은 후 고체기질을 포함한 당화액을 2차 가수분해처리 방법과 같이 산 농도가 4%되게 하여 121°C에서 45분간 반응시키는 방법이다. 즉 Exp. 7은 기질을 먼저 물로 가수분해하고 4% 황산을 사용하여 가수분해하는 2단계 가수분해 방법과 같은 것이다. Exp. 10은 Exp. 5와 같은 방법인데 반응온도가 175°C이다.

#### 회수방법에 따른 당회수율

옥수수 혼합물을 물 가수분해하여 Table 3에 열거된 방법으로 당을 회수한 후 남은 고체 기질과 당화액을 분석하여 Table 4와 5에 나타내었다. Table 4에서는 전처리 후 남아있는 고체기질의 비율이 Exp. 7을 제외하고 모두 비슷하게 나타나고 있음을 보여주고 있다. Exp. 7에서는 다른 방법들과는 달리 반응후 남아있는 고체를 포함한 당화액을 한번 더 가수분해시켰기 때문에 당화액에 포함된 올리고당뿐만 아니라 고체기질에 포함된 상당량의 xylan도 가수분해되었음을 알 수 있다. Exp. 2의 경우는 반응시간이 다른 조건에 비해 1.5배 길기 때문에 남아있는 xmg양이 적게 나타났다. Exp. 8, 9, 10은 반응온도가 175°C였기 때문에 170°C인 경우보다 전반적으로 남아있는 xmg양이 적

었다. 그리고 Exp. 3, 4, 5, 6과 같이 autoclave에서 열을 가하거나 초음파를 조사하여도 침출 후 고체기질에 남아있는 xmg양이 Exp. 1경우와 거의 비슷하여 이 같은 회수방법이 고체기질에 남아있는 xmg에 거의 영향을 주지 않는 것으로 생각된다. Exp. 8, 9, 10의 경우도 위와 같은 이유로 설명될 수 있다. Glucan의 경우는 반응온도나 시간에 관계없이 거의 일정한 양이 고체기질에 남아있어 결정형 glucan은 쉽게 가수분해되지 않음을 알 수 있다. Exp. 2, 5, 7을 제외하고 Exp. 1, 3, 4, 6은 같은 전처리 조건에서 반응을 하였기 때문에 이론적으로는 고체기질에 남아있는 glucan과 xylan양은 모두 같아야 하지만 약간씩 차이가 있는 것은 분석오차 등의 이유인 것으로 생각된다. Exp. 8, 9도 마찬가지로 설명할 수 있겠다.

**Table 4.** Effect of hemicellulose recovery method on composition of solid residue after pure water hydrolysis of corn stover/cobs mixture

exp. no.	pretreatment condition	solid remaining (%)	glucan (%)	Xmg* (%)	arabinan (%)
	untreated	100.0	38.10	21.80	3.10
1	170°C, 1 hr	63.50	33.50	7.43	trace
2	170°C, 1.5 hr	58.50	32.30	4.64	trace
3	170°C, 1 hr	61.65	32.76	7.56	trace
4	170°C, 1 hr	60.32	33.19	7.43	trace
5	170°C, 1 hr	61.75	33.29	6.98	trace
6	170°C, 1 hr	62.40	34.60	8.10	trace
7	170°C, 1 hr	55.80	33.81	3.07	trace
8	175°C, 1 hr	60.00	33.00	5.59	trace
9	175°C, 1 hr	59.83	34.24	5.64	trace
10	175°C, 1 hr	59.13	34.64	5.31	trace

All sugar contents are based on oven-dry untreated biomass.

**Table 5.** Effect of hemicellulose recovery method on composition of hydrolyzates of pure water hydrolysis of corn stover/cobs mixture (solid : liquid = 1 : 4.5, secondary hydrolysis : 121°C, 45min, 4% sulfuric acid)

exp. no.	pretreatment condition	glucan (%)	Xmg* (%)	arabinan (%)	furfural** (%)	HMF** (%)
1	170°C, 1 hr	2.88	9.21	1.12	0.39	trace
2	170°C, 1.5 hr	2.68	9.38	0.62	1.25	trace
3	170°C, 1 hr	2.58	11.03	1.16	0.69	trace
4	170°C, 1 hr	2.51	10.25	1.44	0.70	trace
5	170°C, 1 hr	2.63	10.43	1.21	0.72	trace
6	170°C, 1 hr	2.49	10.64	1.23	0.78	trace
7	170°C, 1 hr	3.40	16.90	1.14	0.79	trace
8	175°C, 1 hr	2.55	10.38	0.69	0.88	trace
9	175°C, 1 hr	2.84	10.45	0.88	1.36	trace
10	175°C, 1 hr	2.84	9.68	0.78	1.39	trace

All sugar contents are calculated after secondary hydrolysis based on oven-dry untreated biomass and expressed as xylan, glucan, arabinan, galactan, mannan equivalents.

\* xylan+mannon+galactan  
\*\* values from primary hydrolyzates

Table 5는 회수방법에 따른 당화액을 2차 가수분해하여 얻은 값인데 Table 2의 경우와 같은 이유로 단당 값을 표시하지 않고 다당 값으로 나타내었다. 170°C의 경우 Exp. 1과 같이 그냥 실온에 두는 것보다 Exp. 3, 4, 5, 6과 같이 침출 기간동안 열을 가하거나 초음파를 조사하는 방법과 같은 물리적인 자극을 주면 액상으로의 회수율이 높아지

는 것으로 판단할 때 상당량의 올리고당이 갇혀있는 것으로 생각된다. 특히 물로 가수분해하는 경우 pH가 4 정도로 아주 낮기 때문에 중합도가 꽤 높은 올리고당이 대부분일 것으로 생각된다. 175°C에서는 회수된 xmg 양이 물리적인 자극이 없는 경우 (Exp.8)는 170°C의 같은 조건의 경우 (Exp.1)보다 크지만, 자극이 있는 경우 (Exp.9, 10)는 170°C의 같은 조건의 경우 (Exp.3, 5)에 비해 거의 같거나 작다. 즉 회수시 열을 가해도 xmg가 증가하지 않고 오히려 감소하므로 고체기공에 포함된 올리고당은 거의 없는 것으로 생각할 수 있다. Glucan의 경우 Exp. 7을 제외하고는 반응온도나 시간에 따른 영향이 거의 없고, arabinan은 반응조건에 따라 액상으로 회수되는 양의 차이가 상당히 커서 다른 당에 비해 잘 분해됨을 알 수 있다. Furfural 또한 반응온도가 높아지거나 (Exp. 8-10), 반응시간이 길어지면 (Exp. 2) 더 많은 양이 생긴다. 그리고 회수시 autoclave에서 열을 가하거나 (Exp. 3, 4, 9, 10), 초음파를 조사하여도 (Exp. 6) 증가하는 것을 알 수 있다.

**Table 6.** Effect of hemicellulose recovery method on total sugar accountability after pure water hydrolysis of corn stover/cobs mixture

exp. no.	pretreatment condition	total glucan in liquid & solid (%)	total xmg in liquid & solid (%)
	untreated	38.10	21.80
1	170°C, 1 hr	2.88 + 33.50 = 36.38	9.21 + 7.43 = 16.64
2	170°C, 1.5 hr	2.68 + 32.30 + 34.88	9.38 + 4.64 = 14.02
3	170°C, 1 hr	2.58 + 32.76 = 35.34	11.03 + 7.56 = 18.59
4	170°C, 1 hr	2.51 + 33.19 = 35.70	10.25 + 7.43 = 17.68
5	170°C, 1 hr	2.63 + 33.29 = 35.92	10.43 + 6.98 = 17.41
6	170°C, 1 hr	2.49 + 34.60 = 37.09	10.64 + 8.10 = 18.74
7	170°C, 1 hr	3.40 + 33.81 = 37.21	16.90 + 3.07 = 19.97
8	175°C, 1 hr	2.55 + 33.00 = 35.55	10.38 + 5.59 = 15.97
9	175°C, 1 hr	2.84 + 34.24 = 37.08	10.45 + 5.64 = 16.09
10	175°C, 1 hr	2.84 + 34.64 = 37.48	9.68 + 5.31 = 14.99

All sugar contents are based on oven-dry untreated biomass.

Table 6은 액상에서 회수되는 양과 고체기질에 남아있는 양을 더해서 glucan과 xmg의 물질수지를 나타낸 표이다. Glucan의 경우는 모든 경우 92% 이상으로 물질수지가 잘 맞으나 xmg의 경우는 Exp. 7에서만 약 92%가 될 뿐 나머지 조건에서는 64~86%로 초기양과 비교하면 상당한 차이가 난다. 특히 반응시간이 길거나 (Exp.2) 반응온도가 높은 경우 (Exp.8, 9, 10) 그리고 침출시 아무런 물리적인 자극을 가하지 않고 실온에 방치해 두는 경우 (Exp.1, 2, 8)는 초기양의 약 64~76% 범위이고, 170°C에서 침출시 열이나 초음파를 조사하는 경우 (Exp.3, 4, 6) 80~86%였다. 이러한 모든 사실을 종합적으로 판단해볼 때 적당한 회수방법을 택하면 고체기공에 포함된 상당량의 올리고당을 회수할 수 있음을 알 수 있다. 이 같은 이유는 온도를 높이거나 초음파를 사용하면 고체의 기공 내에서 올리고당의 확산을 용이하게 해주기 때문으로 생각하고 실제 공정에서는 이 연구에서 사용한 기질보다 훨씬 큰 기질을 사용하고 침출용매인 물을 대량으로 사용할 수 없으므로 이런 방법들이 바이오에탄올 생산공정의 경제성을 높여주는데 필요하다고 생각한다. xmg의 물질수지가 잘 맞지 않는 또 다른 이유는 xylose가 glucose보다 분해되기 쉽고, Table 1

과 2로부터 알 수 있듯이 galactose 또한 비교적 쉽게 분해되기 때문이라고 생각한다.

### 요 약

섬유성 기질을 물 가수분해하여 생긴 당을 최대한 회수하는 여러 회수방법을 조사하였다. 사용한 전처리 조건은 반응온도가 170~180℃, 반응시간이 1시간이었다. 반응 온도가 170에서 180℃로 증가함에 따라 xylan의 용해율은 증가하지만 180℃ 이상에서는 상당량의 당이 분해됨을 알 수 있었다. 가수분해 결과로부터 남은 고체기질과 당화액에서 얻은 당의 물질수지를 조사하였는데 glucan의 경우는 비교적 잘 맞으나, 헤미셀룰로오스는 처리되지 않은 기질에 포함된 초기양과 비교할 때 상당한 차이가 났다. 그래서 여러 가지 회수방법을 고안하여 당의 물질수지를 조사한 결과 회수기간동안 열을 가하거나 초음파를 조사하는 방법과 같은 물리적인 자극을 주면 액상에서 헤미셀룰로오스 회수율이 증가되는 것이 확인되었다. 이런 사실로부터 당 회수시 기질이 크고 전처리 후 침출용매를 많이 사용할 수 없는 상업적인 공정의 경우 상당량의 올리고당이 고체기질내 갇혀 액상으로 회수되지 못할 것으로 생각된다.

### REFERENCES

- Zaitseva, A. F. and N. I. Nikitin (1951), The Aqueous Hydrolysis of Oakwood, *J. Applied Chem. U.S.S.R.* **24**, 427-438.
- Casebier, R. L., J. K. Hamilton, and H. L. Hergert (1969), Chemistry and Mechanism of Water Prehydrolysis on Southern Pine Wood, *Tappi* **52**(12), 2369-2377.
- Kamiyama, Y. and Y. Sakai (1979), Rate of Hydrolysis of Xylo-oligosaccharides in Dilute Sulfuric Acid, *Carbohydr. Res.* **73**, 151-158.
- Kim, S. B., S. J. Kim, D. M. Yum, and S. C. Park (1997), Kinetics in Dilute Acid Hydrolysis of Woody Hemicellulose, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **12**(4), 402-409.
- Kim, S. B. and Y. Y. Lee (1987), Kinetics in Acid-Catalyzed Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose, *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **17**, 71-84.
- McMillan, J. D. (1992), Processes for Pretreating Lignocellulosic Biomass: A Review, NREL/TP-421-4978, NREL, Golden, CO.
- Brennan, M. A. and C. E. Wyman (2004), Initial Evaluation of Simple Mass Transfer Models to Describe Hemicellulose Hydrolysis in Corn Stover, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **113/116**, 965-976.
- Zhu, Y., Y. Y. Lee, and R. T. Elander (2005), Optimization of Dilute-Acid Pretreatment of Corn Stover using a High-Solids Percolation Reactor, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **121/124**, 1045-1054.
- Liu, C. and C. E. Wyman (2004), Impact of Fluid Velocity on Hot Water Only Pretreatment of Corn Stover in a Flowthrough Reactor, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **113/116**, 979-987.
- Yum, D. M., S. B. Kim and S. C. Park (2000), Step-Change Variation of Acid Concentration in a Percolation Reactor for Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose, *Biores. Technol.* **72**, 289-294.
- Kim, S. B., B. H. Um and S. C. Park (2001), Effect of Pretreatment Reagent and Hydrogen Peroxide on Enzymatic Hydrolysis of Oak in Percolation Process, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **91/93**, 81-94.
- [www.ott.doe.gov/biofuels/analytical\\_methods.html/](http://www.ott.doe.gov/biofuels/analytical_methods.html/) (2004)
- Oshima, M. (1965), Wood Chemistry, Process Engineering Aspect, pp.85-99. Noyes Development Corp., New York.
- Iyer, P. V., Z. Wu, S. B. Kim, and Y. Y. Lee (1996), Ammonia Recycled Percolation Process for Pretreatment of Herbaceous Biomass, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **57/58**, 121-132.