

# 목질계 바이오매스의 묽은 산 가수분해 공정에서 포도당 분해물 거동

정태수 · 오경근\*

단국대학교 공학대학 응용화학공학과

## Behaviors of Glucose Decomposition during Dilute-Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass

Tae-Su Jeong and Kyeong-Keun Oh\*

Department of Applied Chemical Engineering, Dankook University, Cheonan, 330-714, Korea.

**Abstract** During a dilute acid hydrolysis, degradation products are formed or liberated by pre-treatment of lignocelluloses depend on both the biomass and the pretreatment conditions such as temperature, time, pressure, pH, redox conditions, and addition of catalysts. In lignocellulosic biomass, sugars can be degraded to furfural which is formed from pentoses and 5-hydroxymethylfurfural (HMF) from hexoses. 5-HMF can be further degraded, forming levulinic acid and formic acid. Acetate is liberated from hemicellulose during hydrolysis. Some decomposed compounds hinder the subsequent bioconversion of the solubilized sugars into desired products, reducing conversion yields and rates during fermentation. In the present work, samples of rapeseed straw were hydrolyzed to study the optimal pretreatment condition by assessing yields of sugars and decomposed products obtained under different reaction conditions ( $H_2SO_4$  0.5-1.25% (w/w), reaction time 0-20 min and temperature range 150-220 C). A careful analytical investigation of acid hydrolyzate of rapeseed straw has not yet been undertaken, and a well-closed mass balance for the hydrolyzate in general is necessary to verify the productivity and economic predictions for this process.

**Keywords:** glucose decomposition, dilute acid hydrolysis, HMF, Furfural, acid-base catalysis rules

### 서 론

최근 화석연료가 고갈되어 감에 따라 대체에너지의 필요성이 계속적으로 증가하고 있다. 이에 따라 에너지로의 전환이 가능한 경재 (hard wood), 연재 (soft wood), 농산 부산물 (agricultural residue)를 비롯한 섬유소계 바이오매스가 중요한 자원으로 부각되고 있다(1, 7). 섬유소계 바이오매스는 크게 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌으로 구성 되어있고, 셀룰로오스는 대부분의 섬유소계 바이오매스 구성 성분의 35% 이상을 차지하는 자연계에 풍부하게 존재하는 바이오폴리머이다(2-6). 셀룰로오스는 결정성 물질로서 일반적으로 가수분해시켜 포도당으로 만든 후 이차적으로 사용

하게 되는데, 셀룰로오스를 에탄올로 전환하기 위한 주요 당화공정으로는 묽은 산, 농축 산 그리고 효소 가수분해법이 있다. 셀룰로오스는 헤미셀룰로오스에 비해 더 가혹조건에서 산 가수분해가 이루어지기 때문에 바이오매스의 당화는 전처리 공정을 거쳐 헤미셀룰로오스를 분리한 후 더 가혹 반응조건에서 셀룰로오스 당화공정을 거쳐 에탄올 생산에 필요한 포도당을 생산하게 된다(4, 8-9). 셀룰로오스의 산 가수분해에 의한 당화공정은 효소 당화공정보다 더 오래된 역사를 가지고 있으며, 산 가수분해법은 1940년대 초에 이미 독일에서 사용되었다(10). 최근에는 효소를 이용한 셀룰로오스 당화방법이 많이 이용되고 있으며 이를 위해 섬유소계 바이오매스에서 묽은 산 가수분해를 통해 헤미셀룰로오스를 당화시켜 분리한 후 남은 셀룰로오스를 효소 당화 시킨다. 산 가수분해를 이용한 바이오매스의 당화는 현재에도 관심분야이고, 넓은 범위의 반응조건에 대해서 연구 되고 있다. 이러한 연구는 포도당의 미생물 발효 효율

### \*Corresponding author

Tel: +82-41-550-3558, Fax: +82-41-550-3044  
e-mail: kkoh@dankook.ac.kr

을 개선하는데 큰 영향을 미쳤다. 그 이유는 산 가수분해 시 포도당이 HMF (HydroxylMethyl Furfural)와 같은 물질로 과분해 되면서 포도당의 에탄올 발효 시 미생물의 성장을 억제하는 역할을 하기 때문에(11-13), 셀룰로오스의 포도당 전환율을 70%이상으로 하면서 분해물 생성을 최소화하는 것을 산 가수분해에 대해 연구하는 일차적 목적으로 하게 되었기 때문이다(10).

포도당 분해물에는 크게 가역적 반응 생성물, 비가역적 반응 생성물, 그리고 구조 이성질체가 생성된다(14). 가역적 반응 생성물은 포도당의 가역적 결합·분해에 의한 이당류와 탈수 작용에 의한 1,6-anhydroglucose가 있으며, 비가역적 반응 생성물에는 HMF, 포름산 (formic acid), 레블린산 (levulinic acid) 등의 미생물의 성장을 억제하는 역할을 하는 물질이 있으며 특히 HMF의 경우 일반적으로 포도당의 이성질체인 과당 (fructose)이 분해되어 생성된다(15). 본 연구에서는 목질계 바이오매스의 묽은산 당화공정에서 부생될 수 있는 포도당의 분해물들에 대하여 조사하고, 순수 포도당과 HMF를 묽은 산으로 처리하여, 포도당 분해물들의 생성 및 이차분해 거동에 대하여 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서는 농촌진흥청 작물과학원 바이오에너지 작물센터 (전라남도 무안)로부터 공급받은 유채대 (Rapeseed straw)를 모델 바이오매스로 사용하였다. 유채대는 블레이드 밀로 분쇄하고, 14 mesh이하 45 mesh이상 (0.35-1.41 mm) 크기의 유채대 입자를  $45 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 건조한 것을 시료로 사용하였으며, 이 때 시료의 수분함량은 4.63%였다(수분함량분석기, OHAUS- MB45)(16). 유채대의 구성 성분은 NREL/TP-510-42619에 따라 분석하였다(17-18). 본 실험에 사용된 표준당은 D-glucose (99%, Merck Co., Germany), D-xylose, L-arabinose (99%, Sigma-Aldrich Co., Ltd, UAS)를 사용하였고, 기타 시약으로는 Cellobiose (98%, Acros, USA), Furfural (99%), 1,6-anhydroglucose (99%), HMF (5-hydroxymethylfurfural) (99%), Levulinic acid (98%)를 각각 Sigma-Aldrich Co.(USA)로부터 구입하여 사용하였으며, Formic acid ( $\geq 98\%$ , Merck Co., Germany), Fructose (99%, Yakuri, Japan)를 사용하였다.

### 실험장치 및 방법

바이오매스 및 포도당의 가수분해에는 길이 20cm, 직경 1cm, 용적 15 mL의 bomb tube reactor를 사용하고, 유채대는  $0.5 \pm 0.01$  g을 충전하여 1 : 15의 고/액 비율에서 묽은산 용액으로 가수분해 반응을 수행하였으며, 포도당은 1.5 g/L용액을 사용하였다. 목적온도까지의 가열 시간은 1분

이내로 조절 하여, 승온중에 일어나는 당분해물의 생성 및 분해 오차를 최소화 하고자 하였다. 목적온도에 도달 후에는 5분 간격으로 시료를 채취한 후  $\text{CaCO}_3$ 로 중화시키고 반응 생성물의 성분을 HPLC (Breeze HPLC system, Waters Co., USA)와 BIO-LC시스템 (Metrohm Co., Switzerland)을 사용하여 분석하였다. HPLC에 사용된 컬럼은 Aminex HPX-87H (Bio-Rad Co., USA), 검출기는 RI detector (Waters 2414)를 사용 하였으며, 검출기 온도는  $50^\circ\text{C}$ 로 하였다. 이 때 이동상은 5 mM의 황산 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 용액을 사용하여 유속 0.55 mL/min으로 조절하였다. Bio-LC시스템에 사용된 컬럼은 CARB1-250/4.6을 검출기는 831 Advanced Bioscan를 사용하였으며, 온도는  $30^\circ\text{C}$ 로 조절하였으며, 이동상은 수산화나트륨과 아세트산나트륨을 각각 20 mM, 5 mM로 하여 유속 1.0 mL/min으로 조절하였다.

## 결과 및 고찰

### 바이오매스의 구성과 가수분해

리그노셀룰로직 바이오매스는 주로 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌으로 구성되며 소량의 무기물 (회분)등의 물질들로 구성되어 있다. 그 중 셀룰로오스는 전체 무게의 30~50%를 차지하며 glucose 단위체가  $\beta$ -1,4-glucoside 결합을 이뤄 긴 사슬형태를 띄고 있다. 또한 리그노셀룰로로직 물질에서의 셀룰로오스 중 50~90%는 수소결합에 의해 결정형으로 존재하고 나머지 부분은 무정형으로 존재한다. 헤미셀룰로오스와 리그닌은 셀룰로오스 주위를 감싸고 있어 셀룰로오스를 외부의 효소적 가수분해로부터 물리적으로 보호하고 있으며, 셀룰로오스의 가수분해 효율에 가장 큰 영향을 주는 요인들이다(3, 19). 헤미셀룰로오스는 많으면 리그노셀룰로직 바이오매스 전체 질량의 25% 정도 까지 차지하며, 셀룰로오스와 같이 그 단위체를 에탄올로 발효시킬 수 있다. 헤미셀룰로오스는 자일로스가 주요 구성성분으로 생각되기 쉬우나 헤미셀룰로오스의 구성성분은 주로 aldopentose로 구성되어 있고, 자일로스, 아라비노오스 등을 포함하며, aldohexoses인 포도당, 만노오스와 갈락토오스를 일부 포함한다. 또한 중합도가 높아 헤미셀룰로오스 중합체의 주 결합사슬이나 가지에는 치환기가 존재하고, 이 치환체와 단위체들이 다양하게 결합하기 때문에 헤미셀룰로오스는 다양한 구조와 기능을 갖는 복잡한 구조를 갖는다. 바이오매스내에 존재하는 헤미셀룰로오스는 리그닌과 셀룰로오스에 공유결합으로 결합되어 있으며, 수소결합을 포함하고 있어 결정형의 셀룰로오스에서 쉽게 분리된다(19). 본 연구에서 사용된 유채대의 구성성분을 표 1에 나타내었다.

### 포도당 분해 생성물

Fig. 1은 포도당 분해생성물의 반응경로를 나타낸 것이다.

**Table 1.** Chemical composition of rapeseed straw

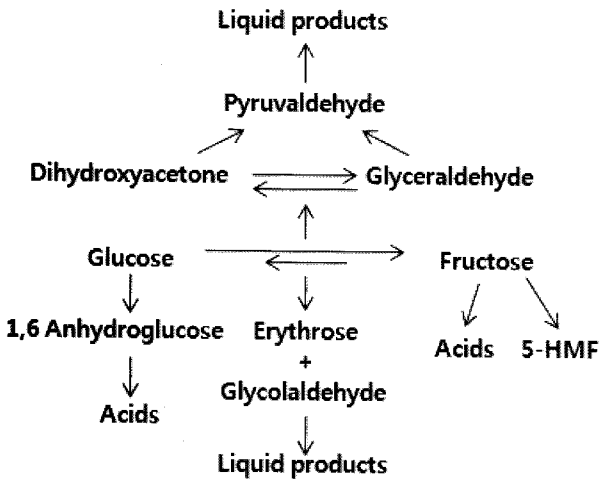
Components	Structural Carbohydrates			K-Lignin	Extractive		Ash
	Glucan	Xylan	Arabinan		E (Hexane)	E (Ethanol)	
Contents (%)	37.87 ± 1.52	18.60 ± 0.52	0.9 ± 0.5	28.00 ± 1.85	0.14	5.66	7.60 ± 0.11

포도당은 이성질체인 과당으로 전환되고 다시 과당이 분해되어 HMF와 유기산 등을 생성하게 된다. 또한 탈수 반응에 의해 1,6-anhydroglucose로 전환되게 된다. 그러나 과당으로 전환되는 중간에 glyceraldehyde, dihydroxyacetone, 및 pyruvaldehyde로 분해되는데 아직까지 그 반응경로는 명확하게 밝혀지지 않고 있다(15).

응온도와 산 농도에 따라 변하게 되는데 이는 일반적으로 Arrhenius식과 acid-base catalysis rules을 따른다(11, 20).

$$k^{Glu} = [k_{H_2O} + k_{h^+} \times (H^+) K_{OH^-} \times (OH^-) \times \exp(-\frac{E^{Glu}}{RT})] \tag{식 1}$$

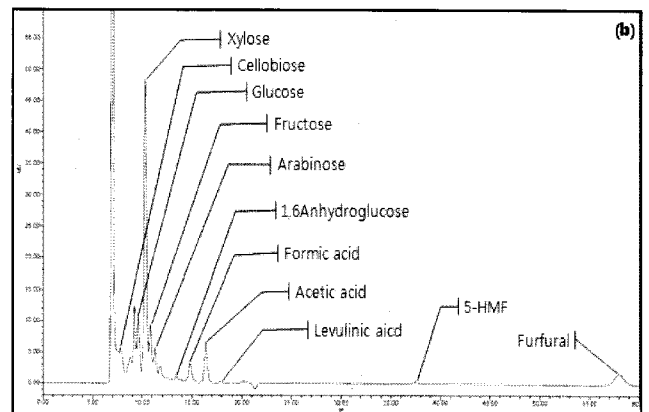
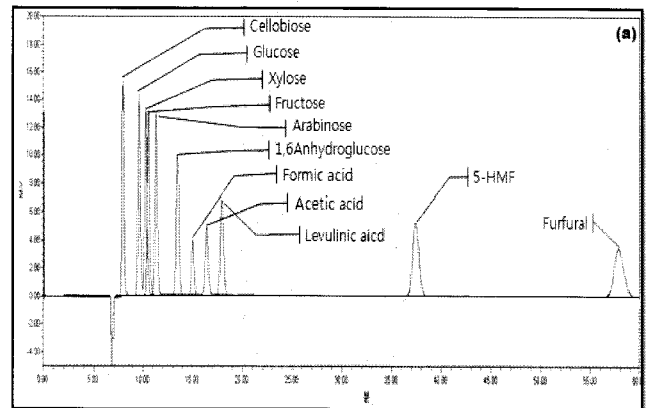
여기서  $k^{Glu}$ 는 포도당 분해에 대한 일차 반응 속도상수,  $E^{Glu}$ 는 활성화에너지, T는 반응온도, R은 기체상수이다. 지수는 acid-base catalysis rules에 의해 산, 염기, 용매에 대한 인자를 포함한다.



**Fig. 1.** Generalized reaction pathway for glucose decomposition.

**포도당 분해물의 분석**

Fig. 2 (a), (b)는 표준시료의 HPLC크로마토그램과 반응 온도 164℃, 산 농도 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 18분간 유체대를 가수분해 했을 때의 반응액을 HPLC로 분석한 크로마토그램이다. 이 분석결과로 바이오매스를 산 가수분해하면 포도당, 자일로즈, 과당, 아라비노오즈, 1,6-anhydroglucose, 포름산, 아세트산, 레블린산, 5-HMF, 푸르푸랄 등이 생성됨을 유추할 수 있다. Fig. 3은 반응온도 164℃, 산 농도 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 1.5 g/L의 포도당 용액을 0~20 min 동안 반응시켰을 때, 포도당 감소량과 분해물들의 생성량을 나타낸 것이다. Fig. 3에서 반응초기에는 포도당의 양이 급격하게 감소하고 1,6-anhydroglucose와 5-HMF의 양이 다른 분해물에 비해 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 반응초기 (승온시간을 제외한)부터 포도당은 일정비율로 감소하였지만, 다른 분해물들은 반응시간에 따라 그 변화량이 물질에 따라 다른 양상을 띄고 있다. 그러나 감소한 포도당의 양과 생성된 분해물질의 양이 거의 일치함을 확인할 수 있다. 이러한 결과들로 보아 포도당과 포도당 분해물의 양은 상호의존성이 있음을 유추할 수 있었다. 포도당 분해 반응은 일차반응에 의해 분해되므로 포도당의 분해율은 반



**Fig. 2.** HPLC chromatogram. (a)standards (Conc.; 1g/L). (b) rapeseed straw hydrolyzate.

포도당 분해실험은 다양한 반응조건에서 이루어 졌으며, Fig. 4에 반응온도 220℃일 때 0.5-1.25% 범위의 산 농도에서 유체대를 가수분해 반응시켰을 경우 분해물의 생성량 변화에 대해 나타내었다. Fig. 4에서는 과당의 양이 반응초기에는 증가하나 반응 중반부터는 감소하며 과

당이 감소하는 시점부터 HMF는 증가하고 과당의 분해생성물인 포름산의(15) 증가율이 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 Fig. 4에서 산 농도가 증가함에 따라 과당과 HMF의 반응 중 최대 생성량이 증가하고 포름산의 최대 생성량은 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과로 HMF는 과당의 분해물임을 유추 할 수 있었으며, 산 농도가 증가함에 따라 당 분해물의 양이 증가함을 확인 할 수 있다. 또한 과당 분해의 반응속도는 포름산으로의 분해반응보다 HMF로의 분해반응이 더 빠르게 진행되는 것으로 사료된다. Fig. 5는 반응온도 164°C, 산 농도 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 HMF를 (반응온도 164°C, 산 농도 0.77%에서 유채대를 가수분해 시켰을 때 생성되는 HMF의 양인 1.308 g/L를 100%로 설정 함) 출발 물질로 상기 조건에서 0~20 min 동안 산 가수분해 시켰을 때 HMF와 HMF 분해물의 변화량을 나타낸 것이다. Fig. 5에서는 반응물과 생성물 양의 변화가 Fig. 3에서 나타난 결과와 비슷한 양상을 띠는 것을 볼 수 있었으며, HMF가 분해되어 포름산, 레블린산, 푸르푸랄 등이 생성되고, 그 중 포름산이 가장 많이 부생되는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 포름산과 레블린산의 생성량은 HMF의 감소비율이 낮아짐에 따라 증가하지만 푸르푸랄의 생성량은 반응초기에는 증가하지만 반응이 진행 될수록 그 양이 감소하는 것을 확인 할 수 있었다.

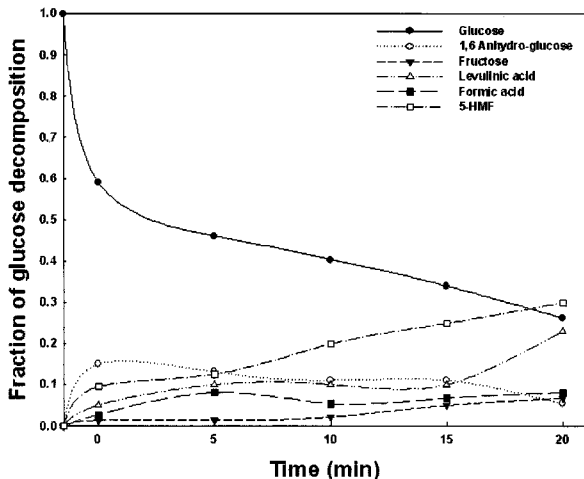


Fig. 3. Profiles of glucose disappearance and formations of decomposition products with 1.5 g/L of initial glucose concentration under condition of 164°C and 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 포도당의 가역적 분해반응

Fig. 3에서 볼 수 있듯이 포도당 분해반응 속도는 반응 초기에는 일차반응에 부합되는 양상을 확인할 수 있었다. 포도당 분해반응이 일차반응속도론을 따른다고 한다면, 반응초기에는 이성화 및 탈수반응과 같은 가역반응 속도가 포도당 분해반응과 같은 비가역적 반응속도에 비해 매

우 크지만, 가역적인 반응과 비가역적 반응속도는 반응이 진행될수록 평형에 가까워지게 된다고 판단할 수 있다. 또한 실험결과들에서 공정변수인 반응온도와 산 농도 모두 포도당 분해에 영향을 미치는 주요 공정요소라는 것을 확인할 수 있었다.

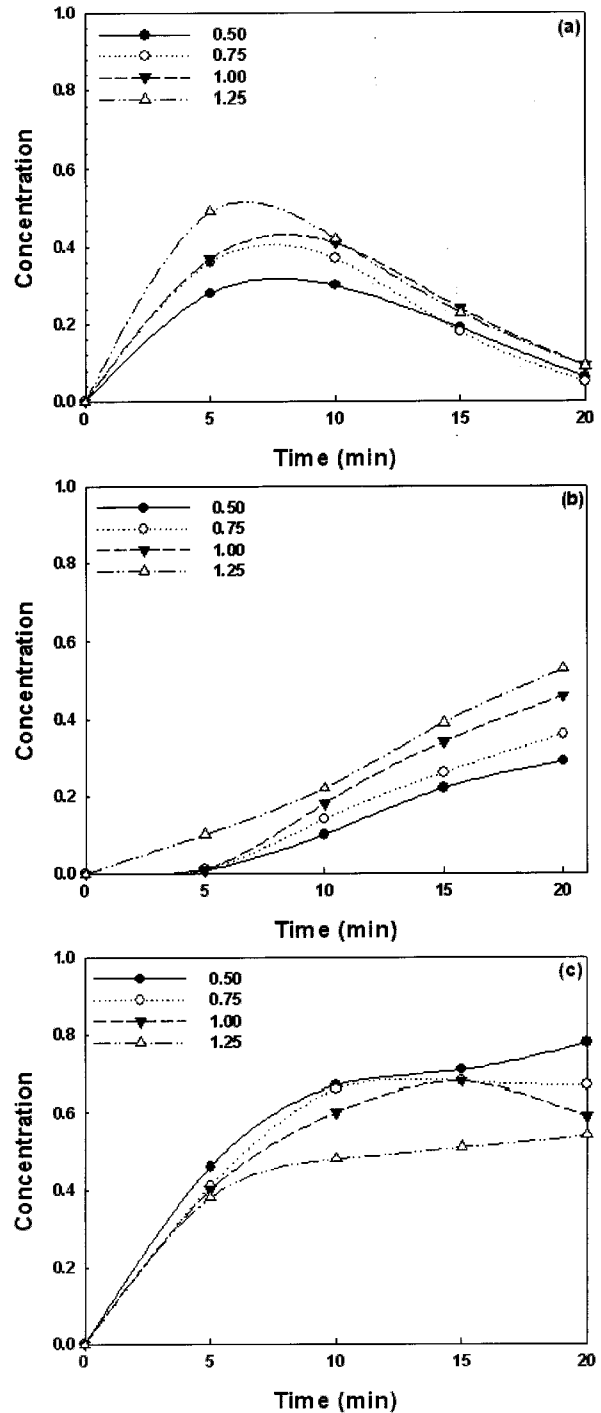


Fig. 4. Time courses of sugar decomposition products in rapeseed straw hydrolyzate with various acid concentration at 200°C, (a) Fructose, (b) 5-HMF, (c) Formic acid.

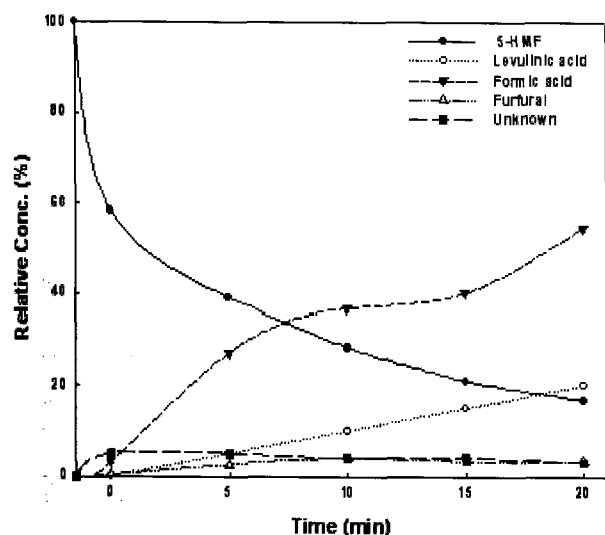


Fig. 5. Profiles of 5-HMF disappearance and formations of decomposition products with 1.308 g/L of initial 5-HMF concentration under condition of 164°C, and 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

## 요약

셀룰로오스는 포도당 단위체가  $\beta$ -1,4-glucoside 결합을 이뤄 긴 사슬형태를 띤다. 또한 리그노셀룰로오스 물질에서의 셀룰로오스 중 50~90%는 수소결합에 의해 결정형으로 존재하고 나머지 부분은 무정형으로 존재한다. 본 연구에서는 셀룰로오스를 구성하는 포도당의 분해 생성물을 확인하기 위해 셀룰로오스 바이오매스 (유채대)와 1.5 g/l의 순수한 포도당을 반응온도 164°C, 산 농도 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0~20 min 동안 묶은 산 가수분해 시켜 분해물의 생성량 변화를 관찰하였다. 포도당을 묶은 산에 의해 분해시키면 탈수반응에 의해 1,6-anhydroglucose가 생성되며, 또한 포도당의 이성질체인 과당으로 전환되고 이 과당은 HMF와 포름산으로 전환된다. 또한 산 농도, 반응온도가 포도당 분해에 영향을 미치는 주요 변수임을 확인할 수 있었다. 그리고 분해생성물 중 하나인 HMF 1.308 g/l를 반응온도 164°C, 산 농도 0.77% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0~20 min 동안 산 가수분해 시켜 HMF와 HMF 분해물의 변화를 확인하였다.

## 감사

이 연구는 2007학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

접수 : 2009년 2월 18일, 게재승인 : 2009년 3월 23일

## REFERENCES

- Eiji Kamio, Hisayoshi Sato, Susumu Takahashi, Hidehiko Noda, Chouji Fukuhara, and Takanari Okamura (2008), Liquefaction kinetics of cellulose treated by hot compressed water under variable temperature conditions, *J. Mater. Sci.* **43**, 2179-2188.
- Juan I. Mora'n, Vera A. Alvarez, Viviana P. Cyrus, and Analia Va'zquez (2008), Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers, *Cellulose* **15**, 149-159.
- Masahisa Wada, Gu Joong Kwon, and Yoshiharu Nishiyama (2008), Structure and Thermal Behavior of a Cellulose I-Ethylenediamine Complex, *Biomacromolecules* **9**, 2898-2904.
- Baek, Sang woo (2004), Production of sugar by dilute acid hydrolysis of biomass : SEDAP treated oak wood and sugarcane bagasse, M. S. Thesis, Dept. of Industrial chemistry, Dankook university, Cheonan.
- Karasmanoglu, F., E. Tetik, and E. Gollu (1999), "Biofuel production using slow pyrolysis of the straw and stalk of the rapeseed plant", *Fuel processing Technology* **59**, 1-12.
- Karimi, Keikhosro, Shauker Kheradmandinia and Mohammad J. Taherzadeh (2006), "conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis", *Biomass and Bioenergy* **30**, 247-253.
- Anneli Petersson, Mette H. Thomsen, Henrik Hauggaard-Nielsen and Anne-Belinda Thomsen (2007), Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean, *Biomass and Bioenergy* **31**, 812-819.
- A. T. W. M. Hendriks and G. Zeeman (2009), "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass", *Bioresource Technology* **100**, 10-18.
- Vignon, M. R., Heux, L., Malainine, M. E., and Mahrouz, M. (2004), Arabinan-cellulose composite in *Opuntia ficus-indica*, prickly pear spines *Carbohydr. Res.* **339**(1), 123-131.
- Faith, W. L. (1945), Development of the scholler process in the united states, *Ind. Eng. Chem.* **37**(1), 9-11.
- Qian Xiang, Yoon Y. Lee, and Robert W. Torget (2004), Kinetics of Glucose Decomposition During Dilute-Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass, *Applied Biochemistry and Biotechnology* **115**, 1127-1138.
- Ye Sun and Jay J. Cheng (2005), Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production, *Bioresource Technology* **96**, 1599-1606.
- Sang Woo Baek, Jun Seok Kim, Yoon Kook Park,

- Young Soo Kim, and Kyeong Keun Oh (2008), The Effect of Sugar Decomposed on the Ethanol Fermentation and Decomposition Reactions of Sugars, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **13**, 332-341.
14. Conner, A. H., Wood, B. F., Hill, C. G., and Harris, J. F. (1986), in *Cellulose: Structure, Modification and Hydrolysis*, pp281-296, Young, R. A. and Rowell, R. M., eds., John Wiley and Sons, New York, NY.
  15. Bernard M. Kabyemela, Tadafumi Adschiri, Roberto M. Malaluan, and Kunio Arai (1999), Glucose and Fructose Decomposition in Subcritical and Supercritical Water: Detailed Reaction Pathway, Mechanisms, and Kinetics, *Ind. Eng. Chem. Res.* **38**, 2888-2895.
  16. Hames, B., R. Ruiz, C. Scarlata, A. Sluiter, J. Sluiter, and D. Templeton (2005), "Preparation of Samples for Compositional Analysis", NREL-LAP.
  17. Sluiter, A., B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. Crocker (2008), "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass" NREL-LAP.
  18. Sluiter, A., B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton (2005), "Determination of Ash in Biomass", NREL-LAP.
  19. Brigham, J. S., Adney, W. S., and Himmel, M. E. (1996), in *Handbook on bioethanol; Production and Utilization*, pp119-141, Wyman, C., ed., Tayler and Francis, Washington, DC.
  20. McKibbins, S. W., Harris, J. F. and Saeman, J. F. (1961), A sample applicator for chromatographic paper and its use for 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde and levulinic acid analysis, *J. Chromatogr. A* **5**, 207-216.