

## 셀룰로오스계 원료작물로서 수수-수단그래스 교잡종의 바이오에탄올 생산량 평가

차영록\*<sup>†</sup> · 문윤호\* · 구본철\* · 안종웅\* · 윤영미\* · 남상식\*\* · 김종근\* · 안기홍\* · 박광근\*

\*농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터, 전남 무안군 청계면 무안로 199

\*\*농촌진흥청 국립식량과학원 기획조정과, 경기도 수원시 서둔동 209

### Evaluation of Bioethanol Productivity from Sorghum x Sudangrass Hybrid for Cellulosic Feedstocks

Young-Lok Cha\*<sup>†</sup>, Youn-Ho Moon\*, Bon-Cheol Koo\*, Jong-Woong Ahn\*, Young Mi Yoon\*, Sang-Sik Nam\*\*, Jung Kon Kim\*, Gi Hong An\*, and Kwang-Geun Park\*

\*Bioenergy Crop Research Center, NICS, RDA, Muan, 534-833, Korea

\*\*Planning & Coordination Division, NICS, RDA, Suwon, 441-857, Korea

**ABSTRACT** The world demand of renewable bioenergy as an alternative transportation fuel is greatly increasing. Research for bioethanol production is currently being progressed intensively throughout the world. Therefore it will be necessary to develop bioethanol production with cellulosic materials.

In this study, the yield of ethanol production was evaluated by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using sodium hydroxide pretreated sorghum x sudangrass hybrids. Composition analysis of 11 varieties of sorghum x sudangrass hybrids was performed for selection of excellent variety to efficiently produce bioethanol. The content of cellulose, hemicellulose, lignin and ash of these varieties were 32~39%, 19~24%, 17~22% and 6~11%, respectively. Among these varieties, 4 varieties of sorghum x sudangrass hybrids were selected for the evaluation of ethanol yield and those were pretreated with 1 M NaOH solution at 15 0°C for 30 min using high temperature explosion system. After pretreatment, samples were neutralized with tap water. It contained 52~57% of cellulose. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) was carried out for 48 h at 33°C by *Saccharomyces cerevisiae* CHY1011 using Green star variety. The yield of ethanol was 92.4% and the amount of ethanol production was estimated at 6206 L/ha.

**Keywords :** bioenergy crop, sorghum×sudangrass hybrid, bioethanol production, simultaneous saccharification and fermentation (SSF)

**최근** 유가폭등으로 1970년대 오일쇼크가 재발하는 것에 대한 위기감이 팽배해져 가고 있어 계속되는 불경기로 침체된 국내경기에 마이너스 요인이 되고 있다. 이를 극복하기 위해 미국은 최근 국가 바이오연료 실행계획에서 재생에너지에 대한 투자 및 연구개발을 통해 향후 10년 동안 휘발유 소비량의 20%를 감축하겠다는 목표를 설정하고 있다. 농경지 및 유휴지를 이용한 switch grass 및 억새등의 재배를 통하여 셀룰로오스계 바이오매스의 생산 극대화화 바이오에탄올 및 바이오기반 화학제품 추출 효율을 높이기 위한 전처리 공정 및 발효기술을 개발하여 실용화 확립 단계에 있다(Wang *et al.*, 1983, Lee *et al.*, 1991). 국내에서도 저탄소 녹색성장을 위해서 신재생에너지 개발에 역점을 두고 있으며, 2009년에는 녹색성장 국가전략 5개년 계획을 수립하였다. 주목할 만한 사항은 신재생에너지 공급 의무화제도(RPS)를 도입하는 것인데, 2012년까지 의무비율을 3%로 설정하고 2020년까지 10%로 상향 적용하는 방안을 계획하고 있다. 또한 2020년까지 온실가스 배출량을 2005년 대비 4%를 감축하기로 최종확정하였다. 이와 같은 감축 목표는 일본 30%, 미국 20%, 유럽연합 13%를 감축하기로 한 선진국과 비교하면 낮은 편이다. 이러한 온실가스 감축을 통해 유가

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-61-450-0131 (E-mail) biocha@korea.kr

<Received 9 November, 2012; Revised 20 December, 2012; Accepted 21 January, 2013>

변동에 취약한 에너지 패러다임을 바꿔 국가 에너지 안보를 재고하고자 한다. 2012년 녹색성장위원회에서 발표한 국가 8대 중점관리 녹색기술 중, 교과부에서는 바이오에너지 및 이차전지에 대한 기술개발에 집중하며 바이오에너지 생산 요소기술로서 바이오에탄올, 바이오디젤 등 수송용 연료개발에 초점을 맞추고 있다.

바이오에탄올 생산은 세계적으로 브라질이 70년대부터 사탕수수 기반의 당질계 바이오에탄올 생산이 선발주자이며, 미국은 옥수수를 이용한 전분질계 바이오에탄올 생산을 산업화하였다. 이 두 나라가 전세계 1세대 바이오에탄올 시장의 90%이상을 차지하고 있지만, 식용 바이오매스의 대량 사용으로 인해 식량문제와 충돌하여 현재는 전 세계적으로 2세대 바이오에탄올인 셀룰로오스계 바이오에탄올 생산 개발에 주력하고 있다.

셀룰로오스계 바이오매스로부터 바이오에탄올 생산을 위한 첫단계인 전처리공정 연구는 산 및 알칼리 처리와 동시에 고온, 고압, 폭쇄방법 등이 다양하게 연구되어지고 있다 (Hasan *et al.*, 2005, Hendriks *et al.*, 2009, Alvira *et al.*, 2010). 미국은 옥수수대를 이용한 바이오에탄올 생산을 위해 다양한 전처리 방법들을 연구하고 있으며 최근 미시간 주립대에서는 섬유질계 에탄올 수율 향상을 위한 새로운 전처리공정을 개발하였다(Qianjun *et al.*, 2010). 개발자인 화학공학과 Bruce Dale 교수는 암모니아를 사용한 저렴한 전처리 공정을 개발하여 이를 AFEX(ammonia fiber expansion)라고 명명하였다. Dale교수는 이 신기술이 효소만 사용할 때 보다 75% 이상 효율이 우수하다고 발표하였다(Lau *et al.*, 2009). 또한 전처리를 통해 얻은 셀룰로오스를 보다 효율적으로 당화 및 발효공정에 이용하기 위하여 우수 당화효소 확보와 발효율이 우수한 발효균주개발에 중점을 둔 연구가 진행되고 있다(Karini *et al.*, 2006, Haan *et al.*, 2007, Saha *et al.*, 2005). 국내에서는 최근 SK 등 정유회사 및 창해 등 주정 제조사, 에너지기술연구원 및 대학 그리고 정부 R&D기관에서 셀룰로오스계 바이오매스를 이용한 수송용 바이오연료개발 연구가 집중적으로 진행 되고 있다. 셀룰로오스계 바이오매스의 전처리 연구는 증기폭쇄법, 산 및 알칼리 용매기반의 고온, 고압처리법 및 팍핑처리 등 다양한 기술들이 연구되고 있으며, 알칼리 용매 중에서 NaOH를 이용한 전처리 기술이 주목받고 있다(Han *et al.*, 2011, Yoo *et al.*, 2012).

셀룰로오스계 바이오에탄올 생산을 위해서는 에탄올 생산공정 기술개발과 동시에 지속 가능한 대량의 원료공급이 필요하다. 바이오에너지 생산을 위해 유망한 에너지 작물로는 다년생인 억새, 갈대 등이 있고 일년생 작물은 수수-수단

그래스 교잡종이 있다. 국내 환경에서 재배가 용이하며 바이오매스 수량이 많은 일년생 작물중 수수-수단그래스 교잡종은 사료용 작물로 개발되었지만 C<sub>4</sub>작물로서 바이오매스 생산량이 다른 일년생 작물에 비해 월등이 많아 에너지작물로 활용도 가능하다. 최근 바이오에탄올 원료작물로서 수수-수단그래스 교잡종의 잠재성에 대한 연구가 진행되고 있으며, 미래의 바이오에너지 작물로 활용성이 높을 것으로 기대된다(Tew *et al.*, 2008).

본 연구에서는 셀룰로오스계 바이오매스를 이용한 바이오에탄올 생산효율성검증을 목적으로 수수-수단그래스 교잡종을 원료작물로 선택하였다. 수수-수단그래스 교잡종을 품종별 성분특성을 파악하고, NaOH를 이용하여 전처리한 후 동시당화발효를 통해 바이오에탄올 생산성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용된 공시작물로는 강원대학교에서 분양받은 수수-수단그래스 교잡종 11품종이며, 2010년 전남 무안 바이오에너지작물센터 관내포장에서 재배하였다. 수확 후 품종별 이화학 특성 및 에탄올 수율 검정을 위해 50°C에서 24시간 건조(대류형 건조기, 다솔과학) 후 1 mm 이하로 분쇄(2단 cutting mill, 그린뱅크)하여 실험재료로 이용하였다.

### 바이오매스 성분 분석

셀룰로오스계 바이오에탄올 생산을 위해서는 발효기질로 사용할 원료를 추출해야 하며, 이를 위해서 먼저 원료별 주요 구성성분을 파악해야 한다. 본 연구에서는 주요 성분으로서 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 및 회분을 분석하였다. 성분분석은 미국 NREL의 표준분석법을 적용하였으며 건조시료 0.3 g을 72% 황산 3 mL에 넣고 30°C에서 1시간 반응시킨 다음, 증류수 84 mL을 첨가하여 121°C에서 1시간 반응시켰다. 반응 종료 후 crucible filter로 여과하여 액상 여과액 일부는 CaCO<sub>3</sub>로 중화하여 glucose, xylose 및 arabinose를 분석하였고, 나머지 액상여과액은 205 nm에서 UV 흡광도를 측정하여 용해성 리그닌 분석에 이용하였다. 또한 여과된 고체 시료는 575°C에서 3시간이상 회화시켜 비용해성 리그닌을 분석하였다.

### 당 및 에탄올 분석

당분석은 고성능 액체크로마토그래피(HPLC-RID, agilent 1260 system, germany)로 수행하였다. 분석 조건은 Biorad Aminex HPX 87H컬럼을 사용하여 65°C에서 분리하였으

며, 이동상은 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 이며 사용된 유속 0.5 mL/min 이었다. 발효액내의 에탄올 분석은 기체크로마토그래피(GC, agilent 6890N)로 수행하였으며, 컬럼은 HP-INNOWAX 19091N-213를 사용하였고 오븐온도는 50~180°C 이었다. 이때 carrier gas는 He를 사용하여 15 mL/min의 유속으로 분석하였다.

### 전처리 방법

본 연구에서는 농촌진흥청 바이오에너지작물센터에서 개발된 고온 폭쇄 전처리 장치를 이용하여 수수 수단그래스 교잡종 시료를 전처리하였다. 신규 고안된 전처리 장치는 800 mL용량의 반응기와 싸이클론 타입의 분리조 및 컨트롤박스로 구성되어 있으며, 반응기의 온도는 히팅코일에 의해 250°C까지 가온할 수 있다. 압력제어 범위는 최대 10MPa 이며, 질소와 이산화탄소를 주입하여 제어할 수 있도록 구성되었다. 반응이 끝난 반응물은 반응기 하단의 미세노즐을 통해 분리조로 순간 폭쇄하였다. 전처리 방법은 바이오매스 시료와 1 M NaOH 용매를 1:14 비율로 반응기 넣고 이산화탄소 3 MPa를 충전 한 다음 반응온도 150°C, 교반속도 120 RPM에서 30분 반응시켰다. 반응이 종료된 후 반응기 압력이 6 MPa이 되도록 질소를 충전한 다음 반응물을 반응기 하단에 설치된분리조로 폭쇄하고 즉시 수돗물로 중화시켜 pH 6~7로 낮추어 고형물만을 10 µm 여과포로 회수하였다.

### 당화 및 동시당화발효 실험

전처리된 시료는 70~80%의 수분을 함유한 젖은 상태로 당화 및 발효 실험에 이용하였다. 당화율 검정 실험은 200 mL 삼각플라스크에서 유효용적 10 mL로 수행하였으며, 1% glucan이 함유된 시료를 기질로 사용하였다. 효소는 Novozymes사에서 제공받은 cellic CTec2를 30 FPU/g-cellulose 농도로 첨가하고, 효소반응조건은 반응온도 50°C, 150 RPM, 반응시간 72시간이었다. 그리고 0.05 M citrate buffer를 이용하여 효소반응의 pH를 일정하게 유지시켰다.

전처리된 시료의 당화율 검정은 시료내 Glucan 0.5 g을 기준으로 하였으며, 시료의 수분 및 Glucan함량을 반영하여 당화에 사용할 시료무게를 계산하였다. Glucan 0.5 g를 함유하는 전처리물의 무게는 식 (1)과 같이 계산하였다.

$$\text{전처리물 무게}(g) = \frac{0.5g}{\text{전처리물의 Glucan함량}(\%)} \times \text{전처리물의 수분함량}(\%) \quad (1)$$

또한 셀룰로오스의 실제 당 전환율은 이론 전환율 90%를

반영하여 식 (2)와 같이 계산하였다.

$$\text{Cellulose 당화율}(\%) = \frac{\text{전환된 Glucose량} \times 0.9}{\text{전처리된 시료내 Glucan함량}(\%)} \times 100 \quad (2)$$

동시당화발효 실험은 250 mL 삼각플라스크에 실리콘 마개를 부착하고 0.2 µm 나일론 실린지필터를 꼽아서 혐기조건하에서 수행하였다. 유효용적은 100 mL였으며 탄소원 배지로 3% glucan을 함유한 전처리물을 사용하였다. 그리고 질소원으로는 1% yeast extract 와 2% pepton를 사용하였다. 효소 사용량은 당화실험에서와 동일하게 cellic CTec2 30 FPU/g-cellulose를 사용하고 0.05 M citrate buffer(pH 4.8)로 효소반응의 pH를 일정하게 유지시켰다. 발효균주는 (주)창해 연구소로부터 분양받은 *Saccharomyces cerevisiae* CHY1011를 사용하였으며, 종균배양은 1% yeast extract, 2% pepton 그리고 2% dextrose를 배지로 사용하여 12시간 씩 2회 반복 배양하였다. 종균배양액 10 mL를 원심분리한 후 상등액을 버리고 균체만 회수하여 증류수 10 mL에 풀어서 접종하였다. 동시당화발효 실험은 발효온도 33°C, pH 5.0, 교반속도 150 RPM 조건에서 48시간 발효 시켰다.

모든 분석 데이터는 2~3회 반복 측정하였으며, 얻어진 결과는 SAS 프로그램 9.2 버전(Statistical Analysis System ver. 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 사용하여 실시하였고, Duncan's multiple comparison test를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 수수-수단그래스 교잡종의 주요 성분분석 결과

본 연구에서는 우수 바이오에너지 작물 선발을 위해 일년생인 수수-수단그래스 교잡종 11품종에 대한 셀룰로오스계 바이오매스의 주성분을 분석하였으며, 각 시료에 대한 성분 분석 결과와 건물수량을 Table 1에 나타내었다. 각 품종의 성분특성은 각 성분별 3반복 측정하였으며, 이중 셀룰로오스 함량은 Revolution 품종이 39.2%로 가장 높았고 헤미셀룰로오스 함량은 Green Star 품종이 24.0%로서 우수하였다. 리그닌과 회분은 각각 17.0~22.0% 와 6.7%~10.7%를 함유하였다. 또한 바이오매스 건물수량은 Green Star 품종이 4,384 kg/10a로서 가장 많았으며, 다음으로 SS504 품종이 4,061 kg/10a 였다. 셀룰로오스계 바이오에탄올 생산 수율 검정을 위해 수수-수단그래스 11품종의 성분분석 결과 탄수화물 함량, 바이오매스 수량이 우수한 Green Star, Revolution, KF429, SS504 4품종을 원료시료로 선별하였다.

**Table 1.** Components of varieties and dry matter yield.

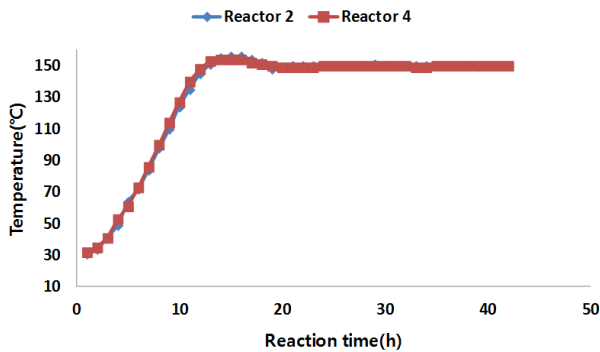
Varieties	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)	Ash (%)	Dry matter yield (kg/10a)
Green Star	35.8bc <sup>1)</sup>	24.0a	18.6fg	9.1b	4,384
877F	35.1bc	19.4f	17.0h	8.3c	2,457
Sordan79	36.1bc	21.8bc	19.6cd	8.4c	2,027
Multicut	35.6bc	19.4ef	18.0g	7.6e	1,783
Revolution	39.2a	20.3de	18.8ef	6.7f	2,474
Honey chew	36.6b	22.1b	19.5de	7.9d	1,776
G7	34.7cd	22.4b	21.8a	9.3b	3,613
Seed1	34.9bc	19.1f	19.4def	7.9d	2,393
KF429	32.9d	19.5ef	20.4bc	9.2b	3,332
KS989	30.9e	21.0cd	20.9b	10.7a	1,156
SS504	32.9d	19.4f	22.0a	7.4e	4,061

<sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at 5% level ( $p < 0.05$ ).

**Table 2.** Components of pretreated samples and its moisture and solid remaining.

Pretreated samples	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)	Ash (%)	Moisture (%)	Solid remaining (%)
Green Star	57.0a <sup>1)</sup>	32.4a	9.0c	1.4c	3.2	42.9
Revolution	52.4b	27.4b	15.6a	2.2a	3.6	43.1
KF429	53.5b	28.9b	12.7b	2.3a	3.4	36.5
SS504	54.4b	27.4b	15.2a	1.8b	3.5	42.2

<sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at 5% level ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 1.** Temperature profile of high temperature explosions system.

#### 당화-발효 기질 생산을 위한 셀룰로오스계 바이오매스의 전처리

성분분석을 통해 선발한 4품종의 수수-수단그래스 교잡종에 대한 에탄올 전환 수율 검정하기 위해 각각의 바이오매스를 전처리하였다. 본 연구에 사용된 전처리 반응기는 히팅코일에 의해 가온하는 PID제어 시스템(proportional integral derivative control)으로서 반응시간에 따른 설정온도 도달시간의 변화를 Fig. 1에 나타내었다.

본 실험에 사용된 반응기는 총 4개로 그림1에는 2번과 4번의 온도변화 프로파일 결과를 나타내었다. 두 반응기 모두 매우 동일한 패턴의 시간에 따른 온도변화를 나타내었고, 설정온도를 150°C로 설정하였을 때 정상상태까지 도달 시간은 평균 12분 소요되었다. 또한 정상상태에서 온도상승 폭은 5°C이하로서 실제 반응시작은 초기 150°C도달하였을 때를 반응 시작점으로 설정하였으며 그림1에서와 같이 안정적으로 온도가 유지되어 실험조건에 부합함을 확인하였다.

각 바이오매스 시료는 2반복으로 전처리를 실시하고 성분분석을 위해 60°C로 24시간 건조하여 NREL 표준 성분분석법(Standard component analysis from national renewable energy laboratory, USA)에 따라 셀룰로오스계 바이오매스의 주요성분을 분석하였으며 그 결과를 전처리 후 회수된 고형물량과 함께 Table 2에 나타내었다.

전처리된 시료의 리그닌과 회분은 대부분 액상으로 용해되었으며, 탄수화물 성분인 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스는 대부분 고형으로 존재하였다. 전처리된 시료내에 존재하는 셀룰로오스 함량은 52.4~57.0%이며, 헤미셀룰로오스

함량은 27.2~32.4%이고 총 탄수화물 함량은 79.8%~89.4% 이었다. 이중 실제로 에탄올 발효에 필요한 기질은 6탄당이며 셀룰로오스를 당화하여 얻어진다. 또한 리그닌과 회분 함량은 각각 9.0~15.6% 와 1.4~2.3%이었다. 그리고 전처리 후 회수된 고형 바이오 매스량(solid remaining)은 Green star, Revolution, SS504는 42~43%이며 KF429는 36.5%였다.

수수-수단그래스 교잡종 4품종에 대한 성분분석 결과와 전처리 후 회수한 바이오매스의 성분분석 결과를 비교하여

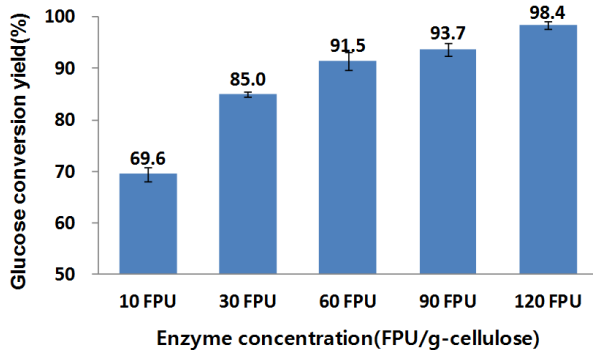


Fig. 2. Glucose conversion yield according to the enzyme concentration.

Table 3. Carbohydrates recovery rate and removal rate of lignin and ash.

Variety	Cellulose recovery (%)	Hemicellulose recovery (%)	Lignin removal rate (%)	Ash removal rate (%)
Green Star	66.1a <sup>1)</sup>	56.1a	79.9a	93.7a
Revolution	55.6b	56.2a	65.4c	86.5c
KF429	56.7b	51.7b	78.2a	91.3b
SS504	67.5a	57.6a	71.9b	90.3b
Average	61.5	55.4	73.9	90.5

<sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at 5% level (p < 0.05).

Table 4. Conditions of saccharification and glucose concentration.

Variety	Moisture (%)	Glucan in sample (%)	Total sample weight (g)	Glucan in sample ODW <sup>2)</sup> (g)	Glucan (g/L)	Glucose conversion (g/L)
Green Star	3.20	57.0	0.9062	0.5003	50.0	54.2a <sup>1)</sup>
Revolution	3.61	52.4	0.9899	0.5000	50.0	41.6c
KF429	3.37	53.5	0.9672	0.5003	50.0	50.6ab
SS504	3.48	54.4	0.9523	0.5001	50.0	45.6bc

<sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at 5% level (p<0.05).

<sup>2)</sup>ODW : Oven dried weight

탄수화물 회수율과 리그닌 및 회분의 제거율을 Table 3에 나타내었다.

전처리 과정을 통해서 회수한 고형물 중에서 전처리 후 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 회수율은 각각 평균 61.5%와 55.4%였으며 회수율이 가장 우수한 품종은 SS504가 각각 67.5%와 57.6%로 가장 높았다. 리그닌 제거율은 4품종의 평균값이 73.9%였으며 Green Star가 79.9%로 가장 제거율이 높았다. 회분 제거율도 Green Star가 93.7%로 가장 높았으며 평균 회분 제거율은 90.5%였다. 리그닌과 회분은 당화 및 발효에 저해역할을 하기 때문에 전처리를 통해 많이 제거될수록 유리하다고 알려져 있다(Park & Kim, 2012). 결과적으로 본 실험을 통해서 4품종중에서 Green Star가 탄수화물 회수율 및 리그닌, 회분 제거율이 가장 우수함을 확인하였다.

### 품종별 전처리물의 당화율 검정

전처리물을 당화하기 위해 cellic CTec 2 효소를 농도별로 당화하고 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

효소가 10 FPU/g-cellulose였을 때 당 전환율은 69.6%였으며, 120 FPU/g-cellulose 었을때는 98.4%였다. 본 실험에 사용된 cellic CTec 2 효소는 덴마크 Novozymes사에서 셀룰로오스계 바이오매스 당화용으로 개발되었고 효소활성이 150FPU/g-cellulose로 농축된 제품으로서 실제 당화공정에 사용할 때는 당화 효소의 비용 및 당화효율을 고려하여 사용하고자 하는 기질의 당화율에 적합한 최적조건에서 사용한다. 본 연구에서는 그림 2에서와 같이 30 FPU/g-cellulose의 효소를 사용하였을 때 당화율 85%이상을 나타내어 적정 농도로 선정하였다.

당화율 검정 실험은 전처리한 4품종을 대상으로 30 FPU/g-cellulose의 cellic CTec 2 효소를 첨가하여 NREL 분석법에 따라 실시하였고, 품종별 당화반응에 사용된 시료 농도 및 전환된 glucose 농도를 Table 4에 나타내었다.

당화실험을 위해 사용된 기질의 양은 시료내 5% Glucan

을 기준으로 하였기 때문에 실제 시료의 무게는 표4와 같이 각 품종별로 수분함량을 포함하여 0.91~0.99 g이었다. 효소반응물 내 초기 Glucan농도가 50 g/L에서 72시간 효소가수분해를 완료한 후에 Glucose로 전환된 농도는 Green Star가 54.2 g/L로 최대값을 나타내었으며, Revolution이 41.6 g/L로 최소값을 나타내었다. 품종별 이론 수율대비 당화율을 검정 결과는 Fig. 3에 나타냈으며 Green Star 품종의 당화율이 97.5%로 가장 우수하였고 Revolution이 74.0%로 가장 낮았다. 또한 KF429와 SS504의 당화율은 각각 91.0%와 82.1%이었다.

당화율 검정 실험 결과 cellic CTec 2 효소 사용량은 30 FPU/g-cellulose이 적당함을 확인하였고, 수수-수단그래스의 전처리물의 당화 실험에서도 회분과 같은 다른 당화 저해물질들의 저해작용이 없이 최대 97.5%까지 당화할 수 있음을 확인하였다.

**동시당화발효(SSF)를 통한 발효율 검정**

바이오에탄올 생산수율은 동시당화발효를 통해 검정하였으며 발효율 검정을 위해 전처리된 시료와 전처리하지 않는

시료를 각 품종별로 비교 실험하였다. 동시당화발효는 48시간 실시한 결과이며, 시료량 및 생산된 에탄올 농도를 Table 5에 나타내었다.

전처리된 시료의 경우 Green Star품종의 에탄올 생산량이 14.14 g/L로 가장 많았으며, 전처리하지 않는 무처리 시료의 경우는 Revolution이 7.29 g/L로서 가장 높았지만, 전처리 시료에 비해 에탄올 생산량이 50%이하로서 매우 적었다. 에탄올 발효율은 기질로 사용된 Glucan 30 g/L를 기준으로 생산된 에탄올 농도를 식 (3)과 같이 계산하였다.

$$\text{에탄올 발효율}(\%) = \frac{\text{에탄올 생산량}(g/L)}{\text{기질 Glucan} \text{량} \times 0.51} \times 100 \quad (3)$$

수수-수단그래스를 기질로 사용한 동시당화발효를 통해 에탄올 발효율을 검정한 결과 Fig. 4와 같이 NaOH로 전처리한 기질이 무처리한 기질에 비하여 월등히 높은 발효율을 나타내었다. 특히 Green Star 품종의 경우 전처리한 기질로 발효하였을 때 92.4%로 가장 우수하였다.



Fig. 3. Glucose conversion yield of pretreated biomass.

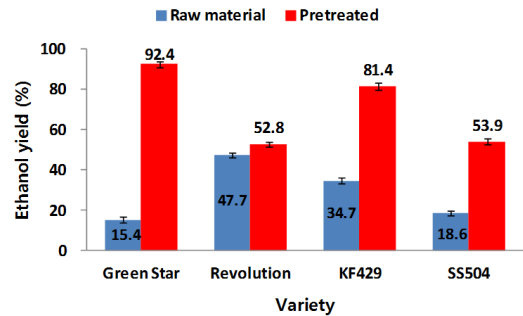


Fig. 4. Comparison of fermentation yield between raw material and pretreated material of varieties.

Table 5. Conditions of simultaneous saccharification and fermentation(SSF) and ethanol concentration.

Variety	Moisture (%)	Glucan in sample ODW (%)	Glucan ODW (g) in sample	Initial glucan (g/L)	Ethanol production (g/L)
Pretreated sample					
Green Star	3.20	57.0	2.7186	30.00	14.14a <sup>1)</sup>
Revolution	3.61	52.4	2.9698	28.89	8.08c
KF429	4.09	52.9	2.9565	30.00	12.45b
SS504	3.48	54.4	2.8568	28.20	8.24c
untreated sample					
Green Star	2.52	35.8	4.2931	30.00	2.35c
Revolution	2.52	35.8	4.2931	30.01	7.29a
KF429	2.14	39.2	3.9128	30.00	5.32b
SS504	2.14	39.2	3.9128	30.00	2.85c

<sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at 5% level (p < 0.05).

## 인용문헌

바이오에탄올 생산량 평가를 위해 선발된 수수-수단그래스 교잡종 중에서 Green Star는 발효율 92.4%의 실험결과를 반영하면 바이오에탄올 생산 수율은 141.7 L/톤임을 확인하였으며, 에탄올 생산 수율의 계산식은 식 (4)에 나타내었다.

$$\begin{aligned} \text{에탄올 생산율(L/톤)} = & \\ & \frac{\text{발효기질 함량(kg/톤)} \times \text{발효율(\%)}}{\text{에탄올의 밀도}0.8(\text{kg/L})} \quad (4) \\ & \times \text{에탄올 전환율}0.51 \end{aligned}$$

또한 Revolutin, KF429 및 SS504의 에탄올 생산 수율은 각각 81,0 L/톤, 124.8 L/톤 그리고 82.6 L/톤이었다. 본 연구에서 실험한 Green Star의 바이오매스 건물수량은 43.8 톤/ha이었으므로 전처리 및 동시당화발효공정을 통해 검증한 에탄올 생산량은 6,206 L/ha 이었다.

## 적 요

본 연구는 바이오에탄올 생산용 작물 선발을 위해 국내 재배 가능한 일년생 작물중에서 바이오매스 생산량이 우수한 수수-수단그래스 교잡종에 대한 바이오에탄올 생산성을 조사하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 총 11 품종의 수수-수단그래스 교잡종 대한 화학적 특성 검증 결과 셀룰로오스 함량은 Green Star 품종이 가장 높았으며 발효율 검정을 위해 Green Star, Revolution, KF429 그리고 SS504 4품종을 선발하였다.
2. 선발된 4품종으로부터 발효 당을 추출하기 위해 시료와 1 M NaOH 용매를 1:14의 비율로 혼합하고 150℃에서 30분간 전처리하였을 때 시료내 셀룰로오스 함량은 55% 이상 이었으며, 발효 저해 작용을 하는 리그닌 및 회분 함량은 65%이상 제거 되었다.
3. 전처리물의 당화율 검정을 위해 celli CTEC II 효소 30 FPU/g-cellulose를 사용하였으며 4품종의 당화율은 평균 86%이었다.
4. 수수-수단그래스 교잡종의 발효율 검정은 동시당화발효(SSF)방법으로 수행하였으며 발효균주로는 *Saccharomyces cerevisiae* CHY1011를 사용하였고, 결과적으로 Green Star의 발효율이 92.4%로 가장 높았으며 에탄올 생산량은 6,206 L/ha임을 확인하였다.

- Hendriks A. T. W. M., and G. Zeeman. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100 : 10-18.
- Saha B. C., L. B. Iten, M. A. Cotta, and Y. V. Wu. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process biochemistry* 40 : 3693-3700.
- Wang D. I .C., G. C. Avgerinos, I. Biocic, S. D. Wang, and H. Y. Fang. 1983. Ethanol from cellulosic biomass. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 300 : 323-333.
- Alizadeh H., F. Teymouri, T. O. Gilbert, and B. E. Dale. 2005. Pretreatment of Switchgrass by Ammonia Fiber Explosion (AFEX). *Applied Biochemistry and Biotechnology* 121-124 : 1133-1141.
- Yoo H. Y., S. B. Kim, H. S. Choi, and K. Kim. Optimization of Sodium Hydroxide pretreatment of Canola Agricultural Residues for Fermentable Sugar Production using Statistical Method. 2012. *International Conference on Future Environment and Energy(IPCBEE)* 28 : 175-179.
- Karini K., C. Emtiazi, and M. J. Taherzadeh. 2006. Ethanol production from dilute-acid pretreated rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with *Mucor indicus*, *Rhizopus oryzae*, and *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology* 40 : 138-144.
- Lynd L. R., J. H. Cushman, R. J. Nichols, and C. E. Wyman. 1991. Fuel Ethanol from Cellulosic Biomass. *Science* 251 : 1318-1323.
- Han M. H., Y. Kim, Y. R Kim, B. W. Chungm, and G. W. Choi. 2011. Bioethanol production from optimized pretreatment of cassava stem. *Korean J. Chem. Eng.* 28(1) : 119-125.
- Lau M. W. and B. E. Dale. 2009. Cellulosic ethanol production from AFEX-treated corn stover using *Saccaromyces cerevisiae* 424A(LNH-ST). *PNAS* 106(5) : 1368-1373.
- Alvira P., E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, and M. J. Negro. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis : A review. *Bioresource Technology* 101 : 4851-4861.
- Shao Q., S. PS. Chundawat, C. Krishnan, B. Bals, L. C. Sousa, K. D. Thelen, B. E. Dale, and V. Balan. 2010. Enzymatic digestibility and ethanol fermentability of AFEX-treated starch-rich lignocellulosics such as corn silage and whole corn plant. *Biotechnology for Biofuels* 3(12) : 1-10.
- Haan R. D., S. H. Rose, L. R. Lynd, and W. H. van Zyl. 2007. Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering* 9 : 87-94.
- Tew T. L., R.t M. Cobill, and E. P. Richard Jr. 2008. Evaluation of Sweet Sorghum and Sorghum x Sudangrass Hybrids as Feedstocks for Ethanol Production. *Bioenerg. Res.* 1 : 147-152.
- Park Y. C. and J. S. Kim. 2012. Comparison of various alkaline pretreatment methods of lignocellulosic biomass. *Energy* 47 : 31-35.