

효소 가수분해 향상을 위해 고압조건에서 Glycerol 수용액을 사용한 폐지의 전처리

서동일, 김창준, 김성배*

Pretreatment of Wastepaper using Aqueous Glycerol under High Pressure to Enhance Enzymatic Hydrolysis

Dong Il Seo, Chang-Joon Kim, and Sung Bae Kim*

접수: 2014년 3월 14일 / 게재승인: 2014년 6월 5일
© 2014 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Pretreatment of wastepaper using aqueous glycerol under high pressure was studied to enhance the enzymatic hydrolysis. The pretreatment was conducted over a wide range of conditions including temperatures of 150~170°C, sulfuric acid concentrations of 0.5~1.5%, and reaction times of 30~90 minutes. After the effect of glycerol concentration on the pretreatment performance was investigated, 70% glycerol was selected. As glycerol concentration was increased, higher digestibility was achieved due to higher lignin removal. The optimum condition was found to be around 160°C, 1%, and 60 minutes. At this condition, 60% and 35% of hemicellulose and lignin, respectively, were removed, while only 5% of cellulose was lost. The enzymatic digestibility was 76%, meaning that 73% of the glucan present in the initial substrate was recovered as glucose after enzymatic hydrolysis. Also, it was found that the temperature and acid concentration than the reaction time were more strongly related to the compositional removals and enzymatic digestibility.

Keywords: Pretreatment, Wastepaper, Glycerol, Enzyme hydrolysis, Organosolv

1. INTRODUCTION

섬유질 바이오매스 기질의 전처리는 기질 내 존재하는 셀룰로오스를 효소를 사용해 발효 가능한 당으로 전환하기 위해 필요한 공정이다. 섬유질계 기질은 풍부한 부존량과 재생 특징, 저렴한 원료비 등의 장점이 있어 이 기질로부터 가솔린을 대체할 수 있는 에탄올 생산을 위한 많은 연구가 진행되고 있다. 특히 폐지와 같은 도시고형물은 자원의 재활용과 환경문제 해결 측면에서 에탄올 생산을 위한 좋은 원료로 평가되고 있다 [1,2]. 섬유질 바이오매스의 전처리는 일반적으로 산, 염기, 수증기, 유기용매 등을 사용한 물리화학적 방법들이 많이 사용되고 있다. 이들 방법 중에서 유기용매를 사용하는 방법은 섬유질 기질에서 리그닌을 제거하는데 매우 효과적이어서 펄프 제조분야에서 상당한 주목을 받아 왔다 [3]. 메탄올과 에탄올 같은 저비점 용매는 휘발성과 가연성이 높기 때문에 폭발 위험이 있어 실제 공정에서는 사용하기 어렵다 [4]. 그래서 ethylene glycol과 glycerol 같은 고비점 유기용매가 고려되는데 가장 큰 장점은 비점이 높아 고압장치 없이 대기압에서 전처리 반응이 가능하다는 점이나, 단점은 용매 비용이 상대적으로 비싸고 사용 후 용매를 회수할 경우 높은 비점으로 인해 에너지 비용이 많이 소요된다는 점이다 [5-8].

Glycerol은 바이오디젤 공정의 부산물로 약 10% (w/w), 즉 1 gal 바이오디젤 생산 당 약 1.05 lb의 glycerol이 생산되고, 2016년에는 40억 gal의 crude glycerol이 생산될 것으로 예측되고 있다 [9]. Crude glycerol은 바이오디젤 공정에서 얻은 정제되지 않은 glycerol을 말하며 crude glycerol에서 glycerol 농

경상대학교 공과대학 생명화학공학과 및 공학연구원
Department of Chemical & Biological Engineering and ERI, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea
Tel: +82-55-772-1781, Fax: +82-55-772-1789
e-mail: sb_kim@gnu.ac.kr

도는 65~85%이고 나머지는 주로 메탄올과 비누 등이다 [9, 10]. Glycerol 순도를 높이기 위해서는 중화, 탈염, 응축, 증류, 탈색 등 여러 단계를 거쳐야 하기 때문에 기술적으로 어렵고 비용이 많이 소요된다. 미국 기준으로 바이오디젤 생산시설이 확장되기 전 crude glycerol 가격은 \$0.25/lb이었는데 2007년 \$0.05/lb로 폭락했다. 정제된 glycerol 수요를 고려해도 바이오디젤 공정에서 생산된 glycerol 공급이 훨씬 많기 때문에 새로운 crude glycerol의 사용분야 개발이 절실하며, 이 crude glycerol을 전처리 용매로 사용할 수 있으면 전처리공정의 경제성 뿐만 아니라 바이오디젤 생산공정의 경제성을 상당히 높일 수 있을 것으로 생각한다.

최근 glycerol을 사용한 전처리 연구가 활발하게 진행되고 있는데 초기에는 산 촉매를 사용하지 않고 70~95%의 정제 또는 정제되지 않는 glycerol을 사용해 wheat straw를 전처리하거나 [11-14], 20~80% glycerol 수용액을 사용하여 sugarcane bagasse를 전처리하였다 [15]. 이들 초본계 기질은 비교적 전처리하기 쉬운 기질이므로 산과 같은 촉매를 사용하지 않았지만, 연구의 공통적인 문제점은 반응온도가 180~240°C로 높아 반응조건이 가혹하고 대기압에서 기질을 전처리하기 어렵다는 점이다. 그래서 보다 낮은 반응온도에서 전처리 효과를 높이기 위해 산 촉매를 사용하기 시작했는데 정제된 glycerol 수용액을 사용하여 활엽수 [16], sugarcane bagasse [17,18], 폐지 [7]를 전처리하는 연구가 발표되었다. 활엽수나 폐지같은 목질계 기질은 초본계 기질보다 훨씬 견고하고 단단한 조직으로 구성되어 있어 촉매없이 높은 전처리 효과를 기대하기 어렵다. 그래서 황산 같은 촉매를 필수적으로 사용해야 하고, 대기압에서 glycerol을 사용하기 위해서는 93% 이상의 glycerol 수용액이 필요하다 [7]. 그러나 crude glycerol에서 glycerol 농도는 70% 내외이므로 대기압에서 기질을 전처리하는 것은 불가능하고 고압 반응기를 사용해야 한다. 폐지는 비교적 회수하기 쉽고 지속적으로 많은 원료 공급이 가능하다는 장점이 있지만 표면에 잉크, 충전제 등과 같은 효소가수분해를 방해하는 물질이 포함되어 있어 전처리 효과를 높이기 아주 어려운 물질이다 [19,20]. 이 연구에서는 70% glycerol 수용액과 산 촉매를 사용하여 비교적 낮은 온도와 고압에서 폐지를 전처리하고 전처리 조건이 기질 용해율, 기질을 구성하는 각 성분의 제거율, 그리고 효소 당화율에 미치는 영향을 조사하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 재료

기질로 사용된 폐신문지 (매일경제, 경남일보)는 5 mm 크기의 체가 내장된 IKA cutting mill (IKA MF10, Germany)을 사용하여 분쇄하였다. 수분을 제외한 초기 기질의 조성은 glucose 59.5%, xylose 16.6%, Klason lignin 11.8%, ash 9.4%이었다. 전처리 용매는 glycerol과 ethylene glycol (99%, Junsei, Japan), 세척 용매는 1,4-dioxane (Junsei, Japan), 촉매는 황산

(96%) (Merck KGaA, Germany)을 사용하였다.

2.2. 전처리

반응기로는 SS316재질의 1.6×14.7 cm (ID×L) 크기로 제작된 스테레스 반응기를 사용하였다. 전처리는 3 g의 건조기질을 반응기에 넣고, 미리 제조된 전처리 용매를 기질 대비 8배 주입한 후, 반응기의 연결부에 O-ring을 장착하여 밀폐하고 3시간 동안 실온에서 정치하였다. 반응은 150~170°C를 유지하는 oil bath에서 30~90분간 진행하였다. 반응이 끝난 다음 반응기를 냉각수조에서 10분 간 냉각하고 내용물을 200 mL dioxane/water (4/1, v/v) 용매를 사용하여 씻어낸 후 자석교반기를 사용하여 2시간 동안 교반하고 여과하였다. 그리고 100 mL dioxane/water 용매와 400 mL 증류수를 사용하여 여과된 기질을 충분히 씻어내고 압착하여 수분을 제거하고 두 부분으로 나누었다. 한 부분은 용해율과 제거율을 구하는데 사용했는데, 용해율은 반응 동안 제거된 고체의 비율인데 105°C에서 하루 밤 동안 건조한 후 식 (1)을 사용하여 계산하였고, 각 성분의 제거율은 초기 성분 대비 반응 후 제거된 비율인데 1.5 mm 크기의 체가 내장된 IKA 분쇄기로 분쇄하여 기질의 조성을 분석한 후 식 (2)를 사용하여 계산하였다. 나머지 부분은 수분손실을 막기 위해 밀폐용기에 담아 냉장보관 하였다가 0.5 g 셀룰로오스에 해당하는 양을 취하여 효소 당화율 측정에 사용하였다.

$$\text{용해율(\%)} = 1 - \frac{\text{반응 후 시료 무게}}{\text{초기 시료 무게}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{제거율(\%)} = 1 - \frac{\text{반응 후 남은 성분의 무게}}{\text{초기 성분의 무게}} \times 100 \quad (2)$$

2.3. 시료의 성분분석

2.3.1. 당 성분분석

분쇄한 기질을 0.3 g 취해 시험관에 넣고 72% (25°C에서 비중 1.63) 황산용액 3 mL를 주입하여 잘 섞이도록 저어준 후, 30°C 항온조에 넣고 15분 간격으로 저어주면서 1시간 동안 가수분해하였다. 이 가수분해물을 100 mL 용량의 병에 옮겨 담고 여기에 84 mL의 증류수를 가하여 4%의 황산용액으로 만들어 autoclave에 넣은 다음 121°C에서 1시간 동안 반응하였다. 반응이 끝난 시료는 실온까지 식힌 후 3 mL 시료를 취하여 원심분리하고 상층액을 HPLC로 분석하였다. 분석에 사용된 HPLC 시스템은 Lab Alliance P6000 pump (Apple Valley, MN, USA), Shodex RI-101 detector (Showa Denko, Japan), Spectra System autosampler (Thermo Separation Product Inc., Riviera Beach, FL, USA)로 구성되었다. 자료획득 및 처리는 Multi Chro (Yullin Technologies Co., Seoul, Korea)를 사용하였다. 분석칼럼은 IC Sep COREGEL 87H3 (Transgenomic Inc., San Jose, CA, USA)이고 사용조건은 65°C에서 0.005 M 황산을 1분당 0.55 mL 흘렸다. 이 칼럼은 xylose, mannose, galactose를 분리할 수 없으므로 이 값을 헤미셀룰로오스라고 본문에 표

기하였다.

2.3.2. Klason lignin 분석

분쇄한 시료를 완전히 건조한 후 1 g 취하여 시험관에 넣고 72% 황산용액을 15 mL 주입하여 잘 섞이도록 저어주었다. 그런 다음 실온에서 2시간 동안 두면서 15분 간격으로 잘 저어준 후, 시료를 1000 mL 플라스크에 옮겨 담고 560 mL의 증류수를 가하여 3%의 황산용액으로 만들었다. 여기에 환류냉각기를 장착하여 4시간 동안 잔잔하게 끓인 후 실온까지 식혀 ash를 포함하지 않은 Whatman No.41 필터를 사용하여 여과하였다. 여과한 필터는 105±3°C의 건조기에서 완전히 건조한 후 무게를 측정하고 필터무게를 제외한 잔류기질 (lignin+ ash)의 무게를 기록하였다. 무게를 재고 난 필터는 도가니에 담아 575±3°C의 전기로에서 5시간 이상 충분히 태운 후 남아 있는 ash 무게를 측정하여 리그닌 양을 계산하였다.

2.4. 효소 당화율 측정

사용한 효소는 Novozymes (Novo Nordisk, Bagvard, Denmark) 제품으로 가수분해반응 중 생성된 cellobiose의 저해작용을 최소화하기 위해 효소는 cellulase (Celluclast, 80 FPU/mL)와 β-glucosidase (Novozym 188, 792 CBU/mL)를 4:1(부피비)로 혼합하여 사용하였다. 미리 계산된 건조기준 0.5 g 셀룰로오스에 상응하는 기질을 250 mL 플라스크에 넣은 후 완충용액 (citrate buffer, pH=4.8) 25 mL와 3차 증류수를 넣어 50 mL로 만들었다. 효소는 첨가량이 15 FPU/g cellulose에 해당하는 양을 사용하였다. 그리고 미리 예열해둔 50°C 진탕항온조에서 90 storke의 교반속도로 72시간 동안 반응한 후, 시료를 채취하고 HPLC로 분석하여 식 (3)으로 효소 당화율을 계산하였다.

$$\text{당화율(\%)} = \frac{\text{가수분해된 glucan 무게 (g)}}{\text{첨가된 glucan 무게 (g)}} \times 100 \quad (3)$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. glycerol 농도

glycerol 수용액을 사용하여 폐지를 전처리하기 위해서는 반응온도가 적어도 150°C 정도는 되어야 하는데, 대기압에서 93% glycerol 수용액의 비점이 약 150°C이므로 93% 이상의 glycerol 수용액이 필요하다 [7]. 그러나 바이오디젤 공정의 부산물로 회수된 glycerol 농도는 65~85%이므로 비점이 대략 110~130°C 범위에 있어 대기압에서는 반응온도가 비점보다 높아 고압에서 전처리 반응을 진행해야한다 [21]. Glycerol과 같은 고비점 유기용매를 사용하는 전처리 공정의 가장 큰 장점은 고압반응기가 필요없다는 점인데 저농도의 glycerol 수용액을 사용하면 낮은 비점으로 인해 고압 반응기가 필요하기 때문에 이런 장점이 없어지게 된다. 대신 부가가치가 낮은 저농도의 glycerol을 사용할 수 있고, 또한 전처리 온도에 대

한 제약이 없어 다양한 조건에서 기질을 처리할 수 있는 장점이 있다. 산업용 또는 crude glycerol을 사용하여 glycerol 농도를 70%로 조정한 후 산 촉매 없이 wheat straw를 전처리한 경우 사용한 온도는 190~240°C, 반응시간은 1~6시간이었다 [12-14]. 산 촉매를 사용하면 이보다 훨씬 낮은 온도와 짧은 반응 시간에서도 효과적으로 기질을 전처리할 수 있지만 사용 가능조건은 산 촉매 농도, 기질 종류, 그리고 glycerol 농도에 따라 크게 좌우된다 [7,15-18]. 산 촉매가 첨가된 glycerol 수용액을 사용한 전처리과정은 크게 두 단계로 나누어지는데 첫 단계에서는 고온에서 물의 자가이온화로 생긴 가수분해 촉매가 헤미셀룰로오스의 저분자화에 관여하고, 다음 단계에서는 전단계에서 생성된 아세트산의 이온화로 생긴 H₃O⁺가 리그닌 제거를 촉진하는 촉매 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [15]. 그리고 glycerol 수용액에 포함된 물은 헤미셀룰로오스나 셀룰로오스를 가수분해하는데 필요하고 glycerol은 저분자화된 리그닌을 용해하여 고체기질로부터 제거하는 역할을 한다.

Fig. 1은 glycerol 농도에 따른 기질 용해율과 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소 당화율의 변화를 나타낸 그림이다. 반응조건은 93% glycerol을 사용하여 폐지를 전처리한 결과에서 얻은 최적조건 (150°C, 황산 1%, 반응시간 60분)을 사용하였다 [7]. 용해율은 glycerol 농도가 50%일 때 18.6%이었고 glycerol 농도가 증가함에 따라 증가하여 50% glycerol에 비해 93% glycerol을 사용할 때 용해율이 24% 증가하였다. 셀룰로오스는 50% glycerol일 때 초기 존재하는 셀룰로오스의 0.6%만이 액상으로 제거되었지만, 93% glycerol일 때는 50% glycerol 사용 때보다 셀룰로오스 제거율이 약 370% 증가하였다. 즉 셀룰로오스는 93% glycerol을 사용하여도 초기 셀룰로오스의 2.8%만 제거되지만 glycerol 농도에 따른 제거율의 증가속도는 매우 큰 것을 알 수 있다. 헤미셀룰로오스는 glycerol 농도가 50%에서 70% 증가할 때 제거율이 약 20% 증가하지만 이후 제거율의 증가는 매우 완만하였다. 리그닌은 50% glycerol일 때 초기 리그닌의

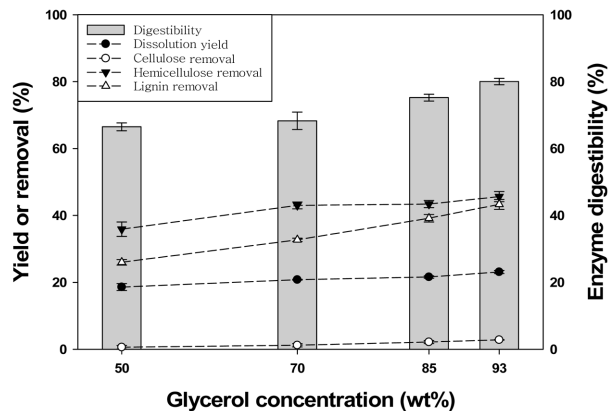


Fig. 1. Effect of glycerol concentration on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 1% H₂SO₄, 150°C, 60 min.

26%가 액상으로 용해되어 제거되었지만 glycerol 농도에 따라 증가속도의 기울기가 커져 93% glycerol일 때 초기 리그닌 양의 43.3%가 제거되었다. 여기서 사용한 glycerol 농도에 관계없이 헤미셀룰로오스 제거율이 리그닌 제거율보다 조금 높게 나타났는데 이것은 선행 연구결과와 일치한다 [7, 18].

Glycerol과 ethylene glycol의 사용 결과를 비교하면 헤미셀룰로오스 제거율은 두 경우 비슷하나 리그닌 제거율은 ethylene glycol을 사용할 때가 훨씬 더 높았다 [7]. 이것은 두 용매의 유전율 (dielectric constant) 같은 특성 차이 때문으로 생각되는데, 유기용매에 의한 리그닌 제거는 용매의 산도, 용매가 리그닌을 저분자화하여 용해할 수 있는 능력에 의존한다 [15, 18]. 리그닌 제거는 섬유질 기질의 분자 구조상 헤미셀룰로오스 제거와도 관련이 있지만 ethylene glycol의 리그닌 용해도가 더 크기 때문에 리그닌 제거율이 더 높다고 생각할 수 있다. 효소 당화율은 50% glycerol을 사용할 때 66.5%로 비교적 낮았으나 glycerol 농도가 증가함에 따라 증가하여 93%일 때 80%에 도달하였다. 그러나 이 수치를 ethylene glycol을 사용할 때와 비교하면 조건에 따라 차이를 보이지만 10%이상 낮은 값이고, 이 효소 당화율의 차이는 리그닌 제거율의 차이 때문에 생긴 것이라고 생각된다 [7,18].

위에서 얻은 결과를 종합적으로 판단해 보면 저농도의 glycerol을 사용하여 폐지를 전처리하면 셀룰로오스 손실은 3% 이내로 최소화할 수 있지만 효소 당화율은 비교적 낮아 crude glycerol의 농도 범위에서는 낮은 효소 당화율이 예상된다.

3.2. 반응온도

대기압에서 glycerol을 전처리 용매로 사용하는 것은 glycerol 수용액의 비점온도를 반응온도를 선택하는데 상당한 제약이 있었다 [7]. 그러나 고압반응기를 사용함에 따라 glycerol 농도와 무관하게 반응온도를 선택할 수 있다. 앞서 토의한 바와 같이 glycerol 농도 증가에 따라 효소 당화율은 증가하지만, 이 연구에서 선택한 glycerol 농도는 crude glycerol의 농도 범위 내에서 비교적 낮은 70%이었고, 이 농도에서 반응온도에 따른 기질 용해율과 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소 당화율의 변화를 Fig. 2에 나타내었다.

반응온도가 150°C에서 170°C로 증가함에 따라 용해율, 각 성분의 제거율, 효소 당화율 모두가 증가하였다. 용해율은 150~160°C 사이 증가폭보다 160~170°C 사이 증가폭이 1.7배 커서 온도에 따라 비선형적으로 증가하였고, 이런 경향은 셀룰로오스와 리그닌 제거율에도 반영되었다. 그러나 헤미셀룰로오스 제거율과 효소 당화율은 온도 상승에 따라 증가속도가 감소하는 경향을 나타내었다. 온도의 증가에 따라 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율도 증가했는데 같은 온도에서 리그닌보다 헤미셀룰로오스 제거율이 약 1.5배 더 높고 제거율의 증가속도도 더 높았다. 셀룰로오스 제거율은 160°C에서 4.5%, 170°C에서 9.4%로 온도 증가에 따라 급격히 증가하였다. 온도 증가에 따라 셀룰로오스 손실이 증가했으나 효소 당화율도 증가했기 때문에 셀룰로오스 손실과 효소 당화율

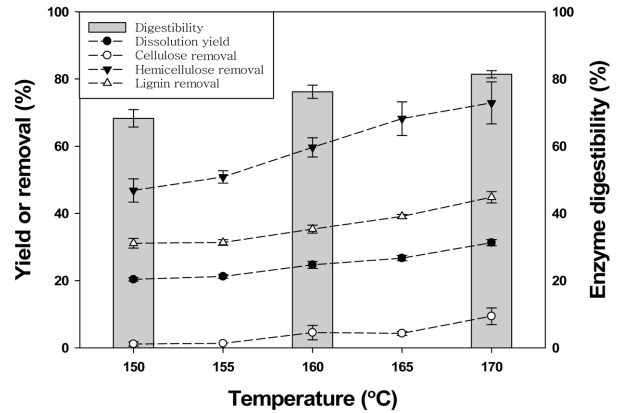


Fig. 2. Effect of temperature on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 70% glycerol solution, 1% H₂SO₄, 60 min.

을 따로 생각하기보다 묶어서 하나의 인자인 실질 당회수율 [효소 당화율(%) × (1 - 셀룰로오스 제거율)]을 도입해 전처리 효과를 해석하는 방법이 편리하다고 생각한다. 전처리의 목적이 전처리 후 셀룰로오스 손실을 최소화하고 남은 셀룰로오스를 효소에 의해 쉽게 가수분해하기 위한 상태로 만드는 것이므로 실질 당회수율로 전처리 효과를 수치적으로 표시할 수 있다. 실질 당회수율은 150°C에서 67%, 160°C에서 73%, 170°C에서 74%이어서 160°C나 170°C 두 경우 거의 같은데, 이는 160°C 이후에는 효소 당화율의 증가속도보다 셀룰로오스의 손실속도가 더 크기 때문이다. 셀룰로오스 손실은 160°C와 170°C에서 각각 초기 함량의 4.5와 9.4%이고 실질 당회수율은 160°C와 170°C 경우 거의 같으므로 전처리 온도는 160°C가 가장 적당한 것으로 판단된다.

3.3. 황산농도

축매인 산 농도는 반응온도와 시간과 함께 전처리 반응에 큰 영향을 미친다. 이들 세 변수는 상호의존적이기 때문에 앞서 결정된 온도 160°C에서 산 농도를 0.5~1.5% 범위 내에서 변화하여 용해율, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소 당화율의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 산 농도가 0.5%에서 1.5%로 증가할 때 기질 용해율은 8.6%에서 32.8%로 크게 증가하였지만 산 농도의 증가에 따라 용해율의 증가속도는 점진적으로 감소하였다. 셀룰로오스 제거율은 산 농도가 0.75% 이내에서는 0.4% 이하로 거의 무시할만한 수준이었지만 산 농도가 1%에서는 제거율이 4%, 그리고 이후 산 농도가 0.25% 증가할 때 마다 제거율이 약 4%씩 증가하여 산 농도가 1.5%일 때 셀룰로오스 제거율은 11.6%이었다.

헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율은 산 농도의 증가에 따라 증가속도가 커졌다가 점차 감소하는 경향을 보였지만, 차이점은 헤미셀룰로오스 제거율의 증가속도가 리그닌 제거율의 증가속도보다 훨씬 크다는 점이다. 이것은 산 농도가 리그닌보다 헤미셀룰로오스의 가수분해반응에 더 큰 영향을 미치

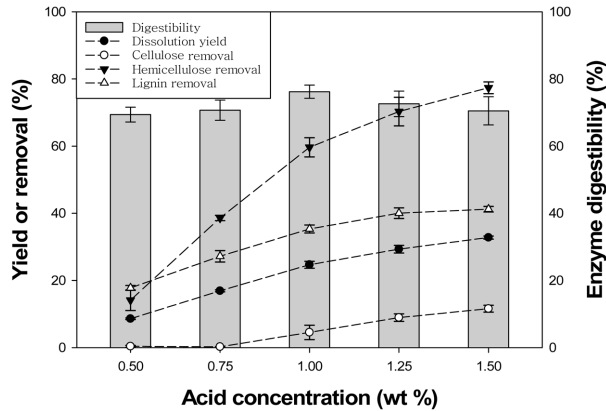


Fig. 3. Effect of acid concentration on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 70% glycerol solution, 160°C, 60 min.

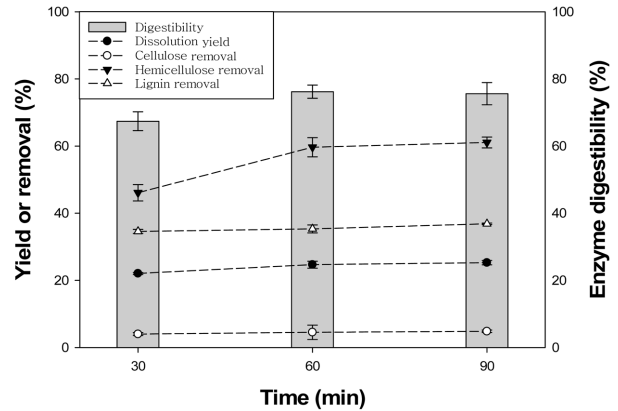


Fig. 4. Effect of reaction time on the digestibility, dissolution yield, and compositional removals. Reaction conditions: 70% glycerol solution, 1% H₂SO₄, 160°C.

기 때문으로 생각된다. 효소 당화율은 산 농도가 1%일 때 최대값인 76%에 도달하고 이후 산 농도가 증가하면 감소하였는데, 그 이유는 산 농도가 1% 이후 셀룰로오스 손실이 급격히 증가하였기 때문으로 생각된다. 셀룰로오스가 산 가수분해되면 초기 무정형의 셀룰로오스가 먼저 제거되고 효소가 가수분해되기 어려운 결정형이 남게되는데 셀룰로오스 손실이 크면 대부분 무정형의 손실로 이어져 낮은 효소 당화율이 얻어진다고 생각할 수 있다 [22]. 실질 당화수율은 산 농도가 1%일 때 73%이고 산 농도가 1.25%와 1.5%로 증가하면 66%와 62%로 감소하였는데 이것 또한 산 농도의 증가에 따라 셀룰로오스 손실이 크게 증가하였기 때문이다. 산 농도의 증가에 따라 실질 당화수율이 감소된다는 사실은 선행연구 결과와 배치되는데 두 연구에서 가장 큰 차이점은 셀룰로오스 손실의 차이 때문으로 해석할 수 있고, 반응조건에 따라 다른 결과를 얻을 수 있음을 암시한다 [7]. 실질 당화수율을 높이기 위해서는 산 농도 크기에 따라 큰 변화가 없는 효소 당화율보다 변화가 큰 셀룰로오스 손실을 가능한 최소화하는 조건을 찾는 것이 더 중요하다고 생각할 수 있다.

3.4. 반응시간

160°C, 1% 산 농도에서 반응시간이 용해율, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 그리고 효소 당화율에 미치는 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 헤미셀룰로오스 제거율과 효소 당화율은 30분에서 60분으로 증가할 때 상당히 증가하였지만 셀룰로오스와 리그닌 제거율은 거의 변화가 없었다. 여기서 효소 당화율이 증가한 것은 헤미셀룰로오스 제거율이 증가한데 기인하기보다 셀룰로오스 손실이 5% 이내로 유지되어 효소 가수분해가 쉬운 무정형 셀룰로오스가 보존되었기 때문으로 생각할 수 있다. 반응시간이 60분에서 90분으로 증가하면 이들 모든 값의 변화가 거의 없어 반응시간을 60분 이상 증가할 필요는 없었다. 93% glycerol을 사용한 선행 연구 [7]에서 얻은 결과와 각각의 최적조건에서 비교하면, 93% glycerol일 경우 셀룰로오스 잔존율은 96%, 헤미셀룰로오스

와 리그닌 제거율은 56%와 49%, 효소 당화율은 86%인데 비하여 70% glycerol을 사용한 경우 각각 95%, 60%와 35%, 76%이었다. 두 경우 셀룰로오스 잔존율과 헤미셀룰로오스 제거율은 큰 차이가 없지만 리그닌 제거율과 효소 당화율은 93% glycerol을 사용한 경우가 14%와 10% 높았다. 즉 glycerol 수용액에서 glycerol 농도가 높으면 높은 효소 당화율을 얻을 수 있고 이것은 헤미셀룰로오스 제거율보다 리그닌 제거율의 차이에 기인한다고 할 수 있다. 이 같은 사실은 ethylene glycol (99%)와 glycerol (93%)을 전처리용매로 사용했을 때 얻은 결과와 동일하고 [7], 폐지 이외 다른 기질을 사용해도 같은 결과를 나타내었다 [18]. 70% glycerol 농도에서는 비교적 낮은 효소 당화율이 얻어지지만 같은 농도 범위에 있는 crude glycerol을 전처리 용매로 사용할 수 있기 때문에 낮은 효소 당화율은 낮은 용매비용으로 보상될 수 있고, 또한 crude glycerol 사용으로 바이오디젤공정의 경제성을 높일 수 있다. Sun 등 [14]이 crude glycerol을 사용하여 산 촉매없이 초본계 wheat straw를 전처리한 경우는 있으나 이보다 전처리가 훨씬 어려운 목질계 기질에 대한 연구는 아직 발표된 적 없기 때문에 앞으로 crude glycerol을 폐지의 전처리용매로 사용할 수 있는 가능성을 조사하는 연구가 필요하다고 생각한다.

4. CONCLUSION

폐지의 효소 가수분해를 높이기 위해 저농도의 glycerol 수용액을 사용하여 폐지를 고압조건에서 전처리하고, 전처리 조건에 따른 기질 용해율, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌 제거율, 효소 당화율의 변화를 조사하였다. 먼저 glycerol 농도가 50~93% 범위 내에서 전처리 실험을 하여 crude glycerol 농도 범위 내인 70%를 선택하였다. 그리고 반응온도 (150~170°C), 산 농도 (0.5~1.5%)와 반응시간 (30~90분)에 따른 전처리 효과를 조사하여 최적조건을 160°C, 1%, 60분으로

결정하였고, 이 조건에서 효소 당화율은 76%, 셀룰로오스 손실을 고려한 실질 당화수율은 73%이었다. 실험 결과 glycerol 농도와 반응변수 변화에 따른 셀룰로오스 손실이 효소 당화율에 큰 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다. 저농도의 glycerol 전처리에서는 비교적 낮은 효소 당화율이 얻어졌지만 부가가치가 낮은 바이오디젤 공정의 부산물인 crude glycerol을 사용할 수 있기 때문에 앞으로 glycerol을 섬유질계 기질의 전처리 용매로 활용할 가능성이 높다고 생각한다.

REFERENCES

- Wyman, C. E. (1994) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresour. Technol.* 50: 3-16.
- Ballerini, D., J. P. Desmarquest, and J. Pourquie (1994) Ethanol production from lignocellulosic: Large scale experimentation and economics. *Bioresour. Technol.* 50: 17.
- Demirbas, A. (1998) Aqueous glycerol delignification of wood chips and ground wood. *Bioresour. Technol.* 63: 179-185.
- Zhao, X., K. Cheng, and D. Liu (2009) Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 815-827.
- Lee, D. H., E. Y. Cho., C. J. Kim, and S. B. Kim (2010) Pretreatment of waste newspaper using ethylene glycol for bioethanol production. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 15: 1094-1101.
- Lee, D. H., C. J. Kim, and S. B. Kim (2012) Preparation of polyester using waste ethylene glycol generated from the wastepaper pretreatment process. *KSBB J.* 27: 51-56.
- Seo, D. I., C. J. Kim, and S. B. Kim (2013) Pretreatment of wastepaper using aqueous glycerol to enhance enzymatic hydrolysis. *KSBB J.* 28: 48-53.
- Xuebing, Z., C. Keke, and D. Liu (2009) Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 815-827.
- Fangxia, Y., M. A. Hanna, and R. Sun (2012) Value-added uses for crude glycerol-a byproduct of biodiesel production. *Biotechnol. Biofuels.* 5: 13.
- Pyle, D. J. (2008) Use of biodiesel-derived crude glycerol for the production of omega-3 polyunsaturated fatty acids by the microalgae *Schizochytrium limacinum*. M.S. Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University, VA, USA.
- Sun, F. and H. Chen (2007) Evaluation of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by atmospheric glycerol autocatalysis. *Chem. Technol. Biotechnol. J.* 82: 1039-1044.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Comparison of atmospheric aqueous glycerol and steam explosion pretreatments of wheat straw for enhanced enzymatic hydrolysis. *Chem. Technol. Biotechnol. J.* 83: 707-714.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Enhanced enzymatic hydrolysis of wheat straw by aqueous glycerol pretreatment. *Bioresour. Technol.* 99: 6156-6161.
- Sun, F. and H. Chen (2008) Organosolv pretreatment by crude glycerol from oleochemicals industry for enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Bioresour. Technol.* 99: 5474-5479.
- Novo, L. P., L. V. Gurgel., K. Marabezi, and A. A. Curvelo (2011) Delignification of sugarcane bagasse using glycerol-water mixtures to produce pulps for saccharification. *Bioresour. Technol.* 102: 10040-10046.
- Liu, J., R. Takada, S. Karita, T. Watanabe, Y. Honda, and T. Watanabe (2010) Microwave-assisted pretreatment of recalcitrant softwood in aqueous glycerol. *Bioresour. Technol.* 101: 355-360.
- Zhang, Z., H. H. Wong, P. L. Albertson, W. O. S. Doherty, and I. M. O'Hara (2013) Laboratory and pilot scale pretreatment of sugarcane bagasse by acidified aqueous glycerol solutions. *Bioresour. Technol.* 138: 14-21.
- Zhang, Z. and I. M. O'Hara (2013) Pretreatment of sugarcane bagasse by acidified aqueous polyol solutions. *Cellulose.* 20: 3179-3190.
- Kim, H. J., S. B. Kim, and C. J. Kim (2007) The effects of non-ionic surfactants on the pretreatment and enzymatic hydrolysis of recycled newspaper. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 12: 147-151.
- Kim, S. B., H. J. Kim, and C. J. Kim (2006) Enhancement of the enzymatic digestibility of waste newspaper using Tween. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 130: 486-495.
- Perry, R. H., D. W. Green, and J. O. Maloney (1999) *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 7th ed., pp. 1254-1255. McGraw-Hill, USA.
- Fan, L. T., M. M. Gharpuray, and Y. H. Lee (1987) *Cellulose Hydrolysis*, pp. 16-19. Springer-Verlag, Germany.