

백합나무를 이용한 고농도 단당류 생산을 위한 산 가수분해 특성 연구*¹

신수정*² · 박종문*² · 조대행*³ · 김용환*³ · 조남석*^{2†}

Acid Hydrolysis Characteristics of Yellow Poplar for High Concentration of Monosaccharides Production*¹

Soo-Jeong Shin*² · Jong-Moon Park*² · Dae Haeng Cho*³ ·
Yong Hwan Kim*³ · Nam-Seok Cho*^{2†}

요약

백합나무 목분으로 고농도 단당류를 생산하기 위하여 진한 황산을 사용하는 산 가수분해 특성을 연구하였다. 목분과 황산의 비율을 달리하거나 2차 가수분해의 온도와 시간을 달리하여 당화액 제조의 최적 조건을 탐구한 결과, 1차 가수분해의 목분과 72% 황산 비율은 1 : 2.61(w/w)였으며, 2차 가수분해 온도와 시간은 105°C에서 70분 가수분해 조건이었다. 이때 생성된 당화액의 농도는 glucose가 44.8 g/L였고 xylose는 25.2 g/L였다. 산 가수분해를 통하여 얻어진 당화액을 발효할 때 발효 저해물질로 알려진 furfural, 5-HMF (5-hydroxymethyl-furfural), 저분자량 페놀성 화합물들이 생성되었는데 furfural과 5-HMF는 2차 가수분해 온도가 높아짐에 따라, 그리고 반응시간이 길어짐에 따라 생성량이 증가하였다. 110°C 2차 가수분해 조건에서 반응시간이 40분을 지남에 따라서 xylose농도는 감소하였고 glucose 농도는 일정하였는데, xylose는 생성속도보다 furfural로 전이속도가 더 빠른 것으로 생각되고, glucose의 경우 생성속도와 5-HMF로 전이속도가 비슷하여 농도가 일정하게 나타났다.

ABSTRACT

We investigated acid hydrolysis characteristics of yellow poplar woodmeal with concentrated sulfuric acid for high concentration of monosaccharides production. Woodmeal to 72% sulfuric acid ratio (w/w), 2nd hydrolysis temperature and time were main variables for finding optimum

*¹ 접수 2009년 4월 9일, 채택 2009년 6월 16일

*² 충북대학교 목재·종이과학과, Wood and Paper Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

*³ 광운대학교 화학공학과, Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea

† 주저자(corresponding author) : 조남석(e-mail: nscho@chungbuk.ac.kr)

reaction condition. Optimum woodmeal to 72% sulfuric acid ratio was 1:2.61 (w/w) and 2nd hydrolysis temperature and time was 105°C and 40 min as 44.8 g/L of glucose and 25.2 g/L of xylose in hydrolysis solution. In this acid hydrolysis solution, furfural, 5-HMF, low molecular weight phenolic compounds were identified. Furfural and 5-HMF concentration were increased as increasing 2nd hydrolysis time. More than 40 min of 2nd hydrolysis at 110°C, xylose concentration was decreased but glucose concentration was leveled out because xylose to furfural reaction was faster than xylan to xylose, but cellulose to glucose reaction was similar rate with glucose to 5-HMF at that 2nd hydrolysis reaction condition.

Keywords: concentrated acid hydrolysis, glucose, xylose, yellow poplar, 5-HMF (hydroxymethylfurfural), furfural

1. 서 론

화석 연료 사용에 의한 이산화탄소 배출로 지구 온난화가 심화되고 있다. 우리나라 연안의 수온 상승으로 어획되는 어종의 변화, 짧아진 봄 가을과 길어지는 여름과 겨울, 불규칙한 강우 패턴 등이 지구 온난화의 산물이다. 지구 온난화 완화를 위하여 석유 유래 연료나 화학 제품을 바이오매스로 대체하려는 연구들이 활발하게 진행되고 있다. 바이오매스를 열분해한 후 열분해 산물을 합성하는 합성가스 공정과 바이오매스 내 탄수화물을 당당류로 전환시킨 다음 이들 당당류를 발효하여 연료나 화학 제품을 대체할 수 있는 제품을 생산하는 당당류 이용 공정을 통해서 가능하다. 목재의 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 구성하고 있는 다당류를 당당류로 전환시키기 위해서는 목분을 직접 산 가수분해하는 방법과 적절한 전처리를 통하여 가수분해 효소가 작용하기 쉬운 구조로 변화시킨 후 효소 가수분해를 통하여 당당류를 얻는 방법이 있다.

이렇게 얻은 당당류는 발효 공정을 통하여 에너지 원이나 석유화학 대체 물질로 변환가능하며, 이들을 분리, 정제함으로써 고부가가치의 최종 산물을 얻을 수 있다. 분리 및 정제비용의 절감을 위해서는 고농도의 당당류수율이 필수적이다. 예를 들어 에탄올 발효에서 사용되는 포도당은 발효 공정에서 이산화탄소와 에탄올을 생성하는데 초기 포도당 농도가 30%인 경우 15%의 에탄올을 생산할 수 있다. 효소 가수

분해나 산 가수분해에서 고 흡습성의 목분은 고형분 농도가 높아짐에 따라 점성이 증가하여 물질이동의 저해를 받게 되고, 이로 인해 반응이 느려지게 된다. 따라서 당당류의 수율을 높이기 위해서는 반응에 저해를 받지 않는 최대한 많은 양의 고형분을 첨가하여 효소 가수분해 반응이나 산 가수분해 반응을 진행시켜야 하고(Iranmahboob 등, 2002), 이를 위해 고형분의 농도에 따른 산 가수분해 특성이 연구되어야 한다.

산 가수분해법은 1819년 프랑스의 화학자 Braconnot가 목재를 진한 황산으로 처리하여 당을 생성시킨 이래 190년간 세계 각국에서 많은 연구와 공업화가 시도된 방법이다. 산 가수분해 반응은 상온에서 진한 산에 의한 1차 가수분해 후, 희석 후 2차 가수분해에 의하여 당당류를 회수하는 방법과 묽은 산 상태에서 고온(170~190°C)으로 처리하여 단당을 회수하는 묽은 산 방법이 있다. 하지만 대부분의 묽은 산 공정에서 당의 회수율이 50% 내외이고, 그 이유는 이런 공정에서 최소한 두 가지 반응이 일어나기 때문이다. 첫 번째 반응은 셀룰로오스성 물질을 당당류로 전환시키는 반응이고 두 번째 반응은 생성된 당이 다른 화합물로 전환되는 반응이다(Conner 등, 1985; Saeman, 1959). 불행하게도 첫 번째 반응의 최적 조건에서 두 번째 반응도 잘 일어난다. 따라서 묽은 산 가수분해 공정은 반응속도가 매우 빠르지만, 당 수율이 낮은 단점을 가지고 있다. 하지만 진한 산 가수분해 공정은 상대적으로 완만한 반응조건에서 반응이 진행된다. 진한 산 가수분해 공정의 장점은 당 회수율이 높

고, 묽은 산 가수분해 공정에 비교하여 상대적으로 낮은 온도와 압력에서 반응이 일어나기 때문에 장비 부식(민두식 및 조남석, 1990)에 대한 우려가 적어서 보다 값싼 재료로 공장을 설계할 수 있다. 단점은 산의 회수공정의 어려움이나 수산화칼슘으로 중화시킬 경우 이때 발생하는 황화 칼슘의 처리가 곤란하다는 점이다(민두식 및 조남석, 1990; 송승구 등, 1986).

본 연구에서는 진한 산 가수분해 방법 중 가장 대표적인 방법인 72% 황산에 의한 1차 가수분해 후 물을 첨가하여 희석 후 2차 가수분해 반응을 통하여 단당류를 얻고자 하였다. 강한 산성 조건에서 glucose나 xylose는 안정적인 최종 산물이 아니기 때문에 산에 의한 탈수 반응이 계속적으로 일어나 5-HMF (5-hydroxymethyl furfural)이나 furfural형태로 전환되는데, 이들 aldehyde구조는 산에 더 민감하기 때문에 산에 의한 축합 반응이 일어나 다른 구조로 변하기도 한다(McKibbins 등, 1962; Root 등, 1959). 또한 이들 aldehyde 구조 화합물들은 다음 단계 효모 발효공정에서 효모의 성장이나 작용을 방해하는 억제제 물질로 산 가수분해 조건에서 이들 화합물의 생성을 최소화해야 한다(Larsson 등, 1998). 본 연구에서는 목분과 황산의 비율을 달리하여 최적 조건의 비율을 찾고자 하였고, 2차 가수분해의 산 농도가 14.4%로 다른 연구에 비하여 상대적으로 높기 때문에 최적 2차 가수분해의 온도와 반응시간을 찾고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

충북대학교 구내에 식재 된 백합나무를 200년 1 벌목하여 수피를 제거한 다음 목재 칩 형태로 제조하였다. 이런 칩을 마쇄하여 분말크기 40~60 mesh 부분을 선별하여 산 가수분해 재료로 사용하였다.

2.2. 산 가수분해

목분(건조 중량 2.50 g)을 72% 황산(24 N)으로 30°C에서 한 시간 1차 가수분해를 행하고, 첨가한 황

산의 2.45배(질량 비)에 해당하는 묽는 물을 첨가하여 황산의 농도가 14.4%가 되도록 하여 소정 시간 동안 2차 가수분해를 실시하였다.

목분대 황산의 비율(w/w)은 1 : 1.96, 1 : 2.61 및 1 : 3.27 조건을 선택하여 실시하였고, 2차 가수분해 온도는 95, 100, 105 및 110°C를 선택하였다. 2차 가수분해 반응 시간은 30, 40, 50, 60 및 70분을 선택하여 최적 조건을 탐구하였다. 주어진 반응 시간과 온도에서 반응을 마친 후 냉각수에서 냉각시킨 후 여과하여 당화액을 수집하고 수산화칼슘과 탄산칼슘을 사용하여 황산을 중화하여 황산 칼슘형태의 침전으로 제거 하였다. 당화액과 황산칼슘 침전액의 혼합물을 감압상태에서 여과하여 당화액을 분리하였다.

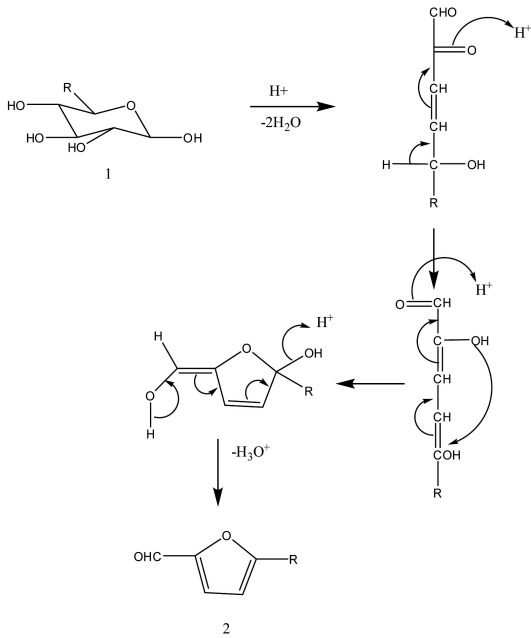
2.3. 산 당화액 분석

산 가수분해한 당화액 내 glucose, xylose, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), furfural, 아세트산의 농도는 액체 크로마토그래프(Agilent model 1200 liquid chromatography)로 분석하였다. 당 및 아세트산의 분석은 Aminex HPX-87H (300 × 7.8 mm, BIO-RAD) 컬럼과 굴절률 검출기(Refractive Index Detector)를 사용하였고, 이동상으로는 5 mM 황산, 유속은 0.6 mL/min, 컬럼 온도는 45°C이었다. 5-HMF와 furfural의 분석은 Zorbax eclipse XDB-C18 (4.6 × 150 mm, 3.5 μm, Agilent) 컬럼과 다이오드어레이 검출기(Diod Array Detector)를 280 nm에서 사용하였고, 이동상은 0.3% 초산용액과 메탄올을 93 : 7의 비율로 사용하였으며, 유속은 0.8 mL/min, 온도는 30°C이었다. 또한 당화액 내 총 페놀량을 정량하기 위해 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하였고(Singleton 등, 1999), gallic acid 표준품으로 만든 검량선을 이용하여 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 목분과 황산의 비율에 따른 가수분해 효과

목분 2.50 g (건조 중량 기준)에서 72% 황산 3.0



1: R=H, Xylose, R=CH₂OH, glucose
 2: R=H, furfural, R=CH₂OH, 5-hydroxymethylfurfural

Fig. 1. Furfural and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) formation from xylose and glucose in acidic reaction medium.

ml (목분대 황산 비율, 1 : 1.96), 4.0 ml (목분대 황산 비율, 1 : 2.61), 5.0 ml (목분대 황산 비율, 1 : 3.27) 조건으로 1차 가수분해 후, 미리 준비한 끓는 물을 1차 가수분해시 황산 첨가량의 2.45배(질량비)로 첨가한 후, 105°C에서 2차 산 가수분해 반응을 진행시켰다. 산의 첨가량이 부족하면 목분이 산에 충분하게 노출되지 못하여 반응하지 못하고 남아 있는 탄수화물의 양이 증가하며, 산의 첨가량이 많으면 희석에 의하여 2차 가수분해 후 당용액 내 당의 농도가 떨어지기 때문에 최적의 산 당화에 필요한 산 첨가 수준을 탐구하고자 하였다.

목분대 황산 첨가 비가 1 : 3.27에서는 희석효과 때문에 다른 황산 첨가 수준에 비하여 glucose 농도가 낮았는데, 이는 희석 효과에 의한 것으로 여겨진다 (Fig. 2). Xylose 생성에서도 1 : 3.27에서는 xylose 농도도 초기 조건에서는 높았지만 40분 이후 농도가 떨어

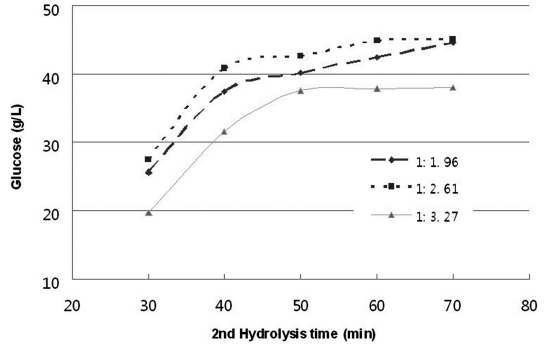


Fig. 2. Glucose formation depending on the ratio of woodmeal and sulfuric acid by 2nd hydrolysis.

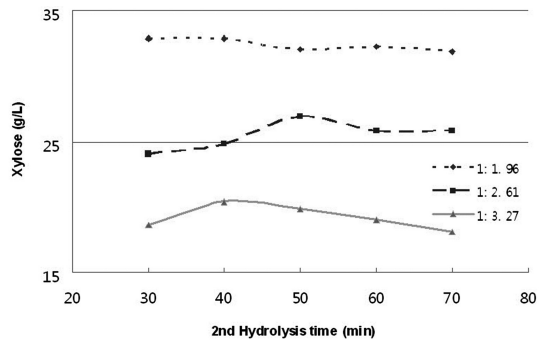


Fig. 3. Xylose formation depending on the ratio of woodmeal and sulfuric acid by 2nd hydrolysis.

어지기 시작하는데, 다른 조건에 비하여 xylose 생성 반응이 일찍 일어난 후 이때부터 xylose 생성 속도보다 생성된 xylose가 산성 조건에서 Fig. 1에 표시한 반응 메카니즘에 의하여 furfural로 전환이 빠르게 일어나기 때문으로 생각된다(Fig. 3).

셀룰로오스는 1차 가수분해에서 올리고당 형태로 분해된 다음 2차 가수분해에서 glucose로 전환이 일어나지만, xylan은 1차 가수분해에서 반응하지 않고 잔류하는 xylan이 2차 가수분해에서 xylose로 전환될 수 있다. Fig. 2에서 당 용액 내 xylose의 농도는 황산 첨가 수준이 작을수록 높게 나타났는데, 이는 황산 첨가 수준이 높을수록 2차 가수분해에 더 많은 물을 첨가하게 되어 희석되었기 때문이라고 생각된다.

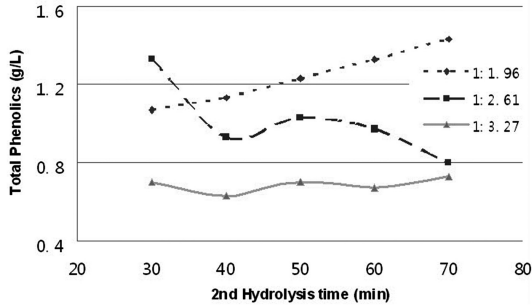


Fig. 4. Total phenolics formation depending on the ratio of woodmeal and sulfuric acid by 2nd hydrolysis.

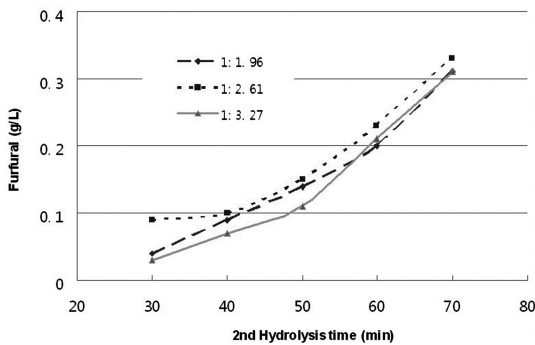


Fig. 5. Furfural formation depending on the ratio of woodmeal and sulfuric acid by 2nd hydrolysis.

산성조건에서는 생성된 glucose와 xylose 단당이 안정한 최종 산물이 아니라 Fig. 1에서 보여주는 반응 메커니즘을 따라서 furfural이나 5-HMF (hydroxymethylfurfural) 구조를 거쳐 중합체를 형성한다. Fig. 5와 Fig. 6에서 furfural과 5-HMF의 농도를 나타냈는데, 산성조건에서 xylose가 glucose보다 민감하기 때문에 2배 이상 높게 나타났다. Furfural과 5-HMF도 산성조건에서 아주 민감하기 때문에 glucose와 xylose의 손실과 furfural과 5-HMF 생성 사이에 상관관계가 성립하지는 않는다. 위의 실험 결과, 목분 2.50 g에 대하여 72% 황산 4.0 mL를 첨가하는 1:2.61 비율(w/w) 조건이 목분의 산 가수분해에 가장 적합한 조건으로 추정하였다.

목분의 산 가수분해에서 리그닌의 일반적인 반응

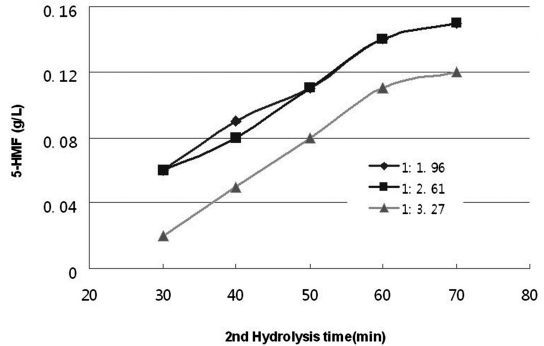


Fig. 6. 5-HMF formation depending on the ratio of woodmeal and sulfuric acid by 2nd hydrolysis.

은 축합에 의하여 분자량이 커지고 2차 가수분해 산물과 여과에 의하여 분리가 가능하다. 하지만 일부는 산 가용성 리그닌 형태로 당화액 내에 존재한다. 저분자량의 페놀성 물질은 효모 발효에서 억제제로 작용할 가능성이 있기 때문에 본 연구에서는 전체적인 페놀성 화합물의 농도를 측정하였다(Fig. 4). 전체 페놀성 화합물의 농도는 0.5~1.4 g/L 수준이었으며, 희석 효과 때문에 산 첨가량이 작을수록 전체 페놀성 화합물의 농도는 높게 나타났다.

목분대 황산의 첨가 비율이 1:3.27인 경우는 희석 효과에 의하여 5-HMF와 furfural의 농도가 다른 조건보다 낮은 수준을 보였다. 1:1.96 조건과 1:2.61 조건에서 두 가지 물질의 농도가 비슷한 것으로 미루어 1:2.61의 황산 첨가에 의한 희석 효과와 더 많은 탄수화물 분해 반응에 의하여 생성물의 생성 사이에 평형을 이루는 것으로 생각된다(Fig. 5 및 Fig. 6).

3.2. 2차 산 가수분해 온도와 시간에 따른 효과

2차 산 가수분해 온도와 시간의 변이에 따른 glucose와 xylose 농도를 Fig. 7 및 Fig. 8에 나타내었다. 110°C를 제외한 다른 2차 가수분해 온도 조건에서 시간이 증가함에 따라 glucose의 농도가 증가하였다. 110°C 조건에서는 40분간 2차 가수분해 이후 glucose의 농도 증가와 glucose의 분해에 의한 소모가 비슷

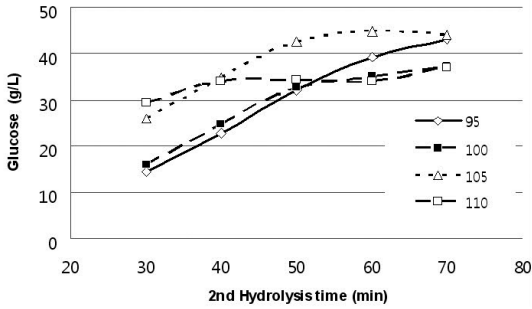


Fig. 7. Glucose formation by different 2nd hydrolysis temperature.

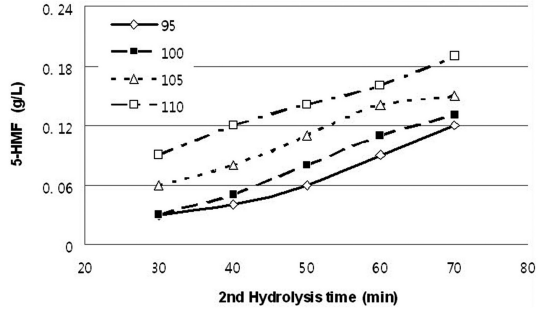


Fig. 9. 5-HMF formation by different 2nd hydrolysis temperature.

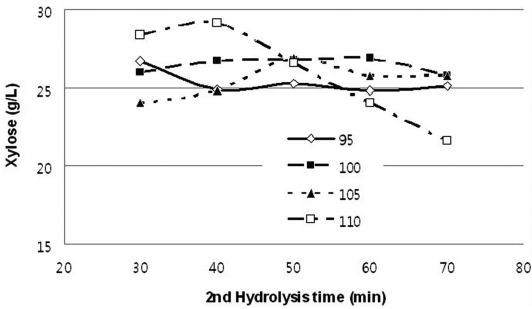


Fig. 8. Xylose formation by different 2nd hydrolysis temperature.

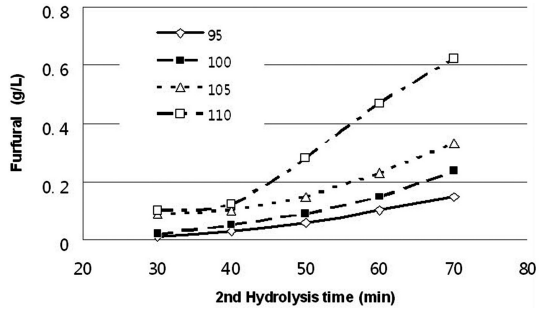


Fig. 10. Furfural formation by different 2nd hydrolysis temperature.

한 속도로 진행되어 glucose의 농도가 일정하게 유지되었다. 고농도 glucose 용액을 제조하기 위한 최적 조건은 100°C나 105°C에서 70분간 2차 가수분해인 것으로 확인되었다. Xylose의 농도는 110°C에서는 40분간 반응한 이후 급격하게 감소하였는데, 이는 xylose의 생성 속도보다 분해속도가 더 빠르기 때문이다. 사탕수수 찌거기의 산 가수분해에 의한 xylose 생성 연구에서 2% 황산 수용액의 경우 최적 가수분해 조건은 122°C, 22분으로 보고되었는데 22분을 경과하면 xylose의 생성보다는 furfural로 전이가 급격하게 진행되기 때문이었다(Aguilar 등, 2002). 산성 조건에서 glucose의 5-HMF 전환보다는 xylose의 furfural 전환이 더 빠른 속도로 진행되기 때문이다.

다른 2차 가수분해 온도와 시간 조건에서 5-HMF와 furfural의 생성을 Fig. 9와 Fig. 10에 나타내었다. 높은 온도의 2차 가수분해에서 더 많은 양의 5-HMF나 furfural이 생성되었다. 당화 용액 내 furfural의

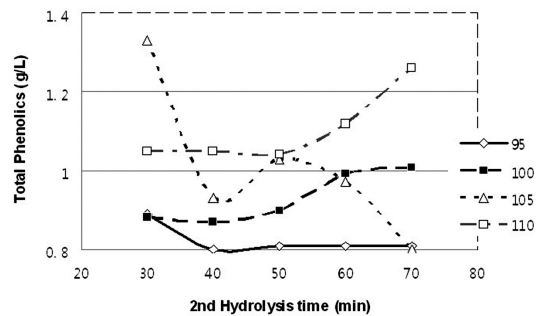


Fig. 11. Total phenolics formation by different 2nd hydrolysis temperature

농도가 5-HMF보다 2배 이상 높았으며 110°C 2차 가수분해 반응에서는 furfural의 농도가 40분 반응 이후 급격하게 증가하였는데, 이는 xylose의 농도 감소와 상관관계가 있다고 생각된다. 용해된 페놀성 화합물의 양은 2차 가수분해 온도와 시간에 따라서 변이

를 보였는데 0.8~1.4 g/l의 범위였다(Fig. 11).

4. 결 론

목분과 진한 황산 비율, 2차 가수분해 온도와 시간에 따른 백합나무 목분을 사용하는 고농도 당화액 제조를 목적으로 연구한 결과, 최적의 당화에 필요한 산첨가수준은 목분과 72% 황산의 비율이 1:2.61(w/w)이었으며, 2차 가수분해 온도와 시간은 105°C에서 70분 가수분해 조건이었다. 이때 생성된 당화액의 농도는 glucose가 44.8 g/l였고 xylose는 25.2 g/l였다. 당화액의 발효시 발효 저해물질인 furfural, 5-HMF, 저분자량 페놀성 화합물들이 생성되는데, furfural과 5-HMF는 2차 가수분해 온도가 높아짐에 따라 그리고 반응시간이 길어짐에 따라 그 생성량이 증가하였다. 저분자량 페놀성 화합물의 생성량은 반응시간에 관계없이 일정한 수준을 나타내었다. 110°C의 2차 가수분해 조건에서 반응시간이 40분을 지남에 따라 xylose농도는 감소하였고 glucose 농도는 일정하였으며, xylose는 생성속도보다 furfural로 전이되는 속도가 더 빠른 것으로 생각되었다. glucose의 경우 생성속도와 5-HMF로 전이 속도가 비슷하여 농도가 일정하게 나타났다.

사 사

본 연구는 한국학술진흥재단의 학문후속세대 양성 사업(KRF-2006-353-F00006)의 연구 지원에 의하여 수행되었습니다.

참 고 문 헌

1. 민두식, 조남석. 1990. 목재당화학. 선진문화사.
2. 송승구, 이민규, 이윤영. 1986. 소량의 수분을 함유한 목

- 재 셀룰로오스의 산촉매 당화 및 생성당의 향류식 추출. HWAHAK KONGHAK 24(5): 351~359.
3. Aguilar, R., J. A. Ramirez, G. Garrote, and M. Vaquez. 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. J. Food Eng. 55: 309~318.
4. Conner, A. H., B. F. Wood, C. G. Jr. Hill, and J. F. Harris. 1985. Kinetic model for the dilute sulfuric acid saccharification of lignocelluloses. J. Wood Chem. Technol. 5(4): 461~489.
5. Iranmahboob, J., F. Nadim, and S. Monemi. 2002. Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. Biomass Bioenergy 27: 401~404.
6. Larsson, S., E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal, C. Tengborg, K. Stenberg, G. Zacchi, and N.-O. Nilverbrant. 1998. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. Enzyme Microbial Technol. 24: 151~159.
7. McKibbins, S. W., J. F. Harris, J. F. Saeman, and W. K. Neill. 1962. Kinetics of the acid-catalyzed conversion of glucose to 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde and levulinic acid. Forest Prod. J. 12(1): 17~23.
8. Root, D. F., J. F. Saeman, J. F. Harris, and W. K. Neill. 1959. Kinetics of the acid catalyzed conversion of xylose to furfural. Forest Prod. J. 9(5): 158~164.
9. Saeman, J. F. 1945. Kinetics of wood saccharification- hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. Ing. Eng. Chem. 37(1): 43~52.
10. Singleton, V. L., R. O. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. Methods Enzymol. 299: 152~178.