

발간등록번호

11-1543000-000241-01

버섯
썩
폐배
지
로가
부수
터분
해
발과
효정
가에
능서
한
나
당타
나
전는
환
을반
위응
한
동
력
학
연
구

5cm
↓

버섯 폐배지로부터 발효가능한 당
전환을 위한 산 촉매 가수분해
과정에서 나타나는 반응 동력학 연구
Kinetic study on the acid-catalyzed
hydrolysis of waste mushroom
medium to fermentable sugar

전남대학교 산학협력단

주 의
(편집순서 8)

(15 포인트 고딕체열)

↑
6cm
↓

농
림
축
산
식
품
부

↑
3cm
↓

↑
9cm
↓

농림축산식품부(17포인트 명조체열)

↑
4cm
↓

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “버섯 폐배지로부터 발효가능한 당 전환을 위한 산 촉매 가수분해 과정에서 나타나는 반응 동력학 연구에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 10월 31일

주관연구기관명 : 전남대학교 산학협력단

주관연구책임자 : 이 재 원

연 구 원 : 서 영 준

연 구 원 : 나 병 일

연 구 원 : 정 소 연

요 약 문

I. 제 목

버섯 폐배지로부터 발효가능한 당 전환을 위한 산 촉매 가수분해 과정에서 나타나는 반응동력학 연구

II. 연구개발의 목적

산 촉매, 반응온도에 따른 버섯 폐배지 가수분해거동을 분석한다. 이를 바탕으로 발효가능한 당 생산을 위한 최적조건을 도출하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

버섯 폐배지를 구성하는 셀룰로오스 분해의 반응동력학적 분석

- Kinetic models 설정
- 가수분해 조건에 따른 셀룰로오스 분해거동 분석
- 글루코오스로부터 5-Hydroxymethylfurfural 분해거동 분석

버섯 폐배지를 구성하는 헤미셀룰로오스 분해의 반응동력학적 분석

- Kinetic models 설정
- 가수분해 조건에 따른 헤미셀룰로오스 분해거동 분석
- 자이로오스로부터 furfural 분해거동 분석

산 촉매 가수분해 후 바이오매스의 물리 화학적 특성 분석

- 바이오매스 미세구조 분석
- 바이오매스 표면적 분석

IV. 연구개발결과

본 연구에서는 140~160°C에서 다양한 산 촉매에 의한 버섯 폐배지 가수분해거동을 조사하였다. Xylan(glucan)에서 xylose(glucose)생성과 xylose(glucose)로부터 furfural(HMF) 분해에 대한 kinetic 인자를 분석하였다. 높은 반응온도와 산 촉매 농도는 xylan(glucan) 가수분해와 xylose(glucose) 분해를 촉진하였다. 최대 반응속도상수(k_1 , k_2)에 대한 가수분해 조건은 산 촉매에 따라 다르게 나타났다. Xylan 반응속도상수(k_1)는 sulfuric acid와 oxalic acid에서 유사하였으며, glucan 반응속도상수는 sulfuric acid에서 높게 나타났다. Sulfuric acid는 oxalic acid와 비교하여 xylose(glucose) 분해를 더욱 유도하여 상대적으로 높은 furfural(HMF)을 생성하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

전처리 공정에서 효율적인 유용가능한 당 생산은 기존의 식품 및 의약 산업에도 적용 가능하며, 바이오에탄올 생산 공정 뿐 만 아니라 바이오리파이너리 기술에 광범위하게 적용 가능하여 생물 산업에 파급효과가 크다. 특히 리그노셀룰로오스계 바이오매스의 이용은 이산화탄소 배출을 줄이는 친환경적인 효과와 더불어 화석연료 대체 효과를 동시에 제공할 것이다.

SUMMARY

I. Title

Kinetic study on the acid-catalyzed hydrolysis of waste mushroom medium to fermentable sugar

II. Purpose of this study

In this study, we studied properties of the waste mushroom medium hydrolysis with acid catalysts at different temperature. Based on those data, the reaction kinetic was investigated to obtain maximum yield of fermentable sugars.

III. Contents

Kinetic study on cellulose of waste mushroom medium

- Kinetic models
- Kinetic study of glucan hydrolysis depending on hydrolysis condition
- Kinetic study of glucose degradation depending on hydrolysis condition

Kinetic study on hemicellulose of waste mushroom medium

- Kinetic models
- Kinetic study of xylan hydrolysis depending on hydrolysis condition
- Kinetic study of xylose degradation depending on hydrolysis condition

Physical and chemical characteristic of pretreated biomass

- Ultra-structural of biomass
- Surface area and pore size of biomass

IV. Results

In this study, we investigated kinetic model for the acid-catalyzed xylan hydrolysis at temperature 140~160°C. Also, we analyzed the kinetic parameters for xylose(glucose) production and furfural(HMF) decomposition. The hydrolysis of xylan(glucan) and the degradation of xylose(glucose) were promoted by high reaction temperature and acid concentration. The hydrolysis condition for the highest reaction rate constants (k_1 , k_2) differed depending on acid catalysts. On sulfuric acid catalysts, the reaction rate constants for xylan hydrolysis was similar with that of oxalic acid, while the reaction rate constants for glucan hydrolysis was high on sulfuric acid. However, sulfuric acid induced more xylose(glucose) degradation compare to oxalic acid hydrolysis.

V. Expected contribution

The efficient recovery of fermentable sugars during pretreatment can apply not only to the food industry but also to the medical industry. Furthermore, pretreatment technology can broadly affect the biorefinery and bioindustry. Especially, lignocellulosic biomass is effective in reducing carbon dioxide emissions and as an alternative to fossil fuel.

CONTENTS

Chapter 1. Instruction	6
1.1 Biomass	6
1.2 Utilization of lignocellulosic biomass	7
1.3 Hydrolysis mechanism of acid catalysts	8
Chapter 2. An overview of development and technology	11
2.1 Chemical pretreatment of lignocellulosic biomass	11
2.2 Biorefinery industry	11
Chapter 3. Method and results	13
3.1 Contents	13
3.2 Results and discussion	14
3.2.1 Kinetic study on xylan hydrolysis	14
3.2.2 Kinetic study on waste mushroom medium hydrolysis	21
Chapter 4. Research objective achievement and distribution	27
Chapter 5. Research and development products and its utilization	28
5.1 Research and development products	28
5.2 Utilization of research and development products	28
Reference	30

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	6
제 1 절 바이오매스의 필요성	6
제 2 절 목질계바이오매스의 이용	7
제 3 절 산 촉매 분해메커니즘 구명	8
제 2 장 국내외 기술개발 현황	11
제 1 절 목질계바이오매스의 화학적 전처리	11
제 2 절 바이오리파이너리 산업	11
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	13
제 1 절 연구내용	13
제 2 절 연구결과	14
1 모델물질 xylan 분해거동	14
2 버섯 폐배지 산 가수분해거동	21
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	27
제 5 장 연구개발성과 및 성과활용 계획	28
제 1 절 연구개발 성과	28
제 2 절 성과활용 계획	28
참고문헌	30

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 바이오매스의 필요성

전 세계적으로 인구증가, 산업화에 따른 에너지 사용량이 증가하고 있으며 이에 따른 화석연료 고갈이 예상되고 있다. 뿐만 아니라 화석연료 사용으로 야기되는 지구온난화 즉 기후 변화는 사회, 문화, 경제를 비롯한 다양한 측면에서 풀어야 할 과제로 남아 있다. 많은 전문가들은 2050년에는 연간 오일 생산량이 250억 배럴에서 50억 배럴로 감소될 것이라고 전망하고 있어 무엇보다 화석연료를 대체할 수 있는 바이오매스 개발 및 활용이 시급한 실정이다.

우리나라 또한 예외는 아니다. 각종 산업화에 따른 에너지 및 석유화학제품 소비 급증과 자동차 문화의 급격한 보급으로 휘발유나 경유와 같은 수송용 연료를 포함하는 화석 연료의 사용이 급증하고 있어 지구 온난화 가스 배출 규제를 피할 수 없는 현실이다. 우리나라는 대부분의 에너지를 석유에 의존하고 있으며 자원의 유한성과 국제 정치적 역학관계에서 안정적인 공급에 위협을 받고 있기 때문에 무엇보다 화석 연료를 대체할 수 있는 에너지 자원의 개발이 시급한 실정이다.

지금까지 오일리파이너리(Oil Refinery, 석유 정제)를 통해 휘발유, 경유와 같은 연료와 수많은 화학제품을 생산해왔다. 하지만 화석연료 고갈이라는 문제점을 안고 전 세계적으로 바이오매스를 원료로 하는 바이오리파이너리가 시도되고 있다. 바이오리파이너리는 바이오매스를 이용하여 바이오에탄올, 바이오디젤 등과 같은 연료와 바이오플라스틱 등의 각종 화학제품을 생산하는 것이다. 태양열/태양광, 풍력, 지열 등과 같은 대체 에너지원들이 단순히 발전과 열 이용 측면에서 석유의 대체 수단인 점을 감안할 때 바이오리파이너리는 훨씬 포괄적인 범위에서 석유를 대체하려는 노력이라 할 수 있다. 이러한 움직임이 가장 활발하게 나타나고 있는 곳은 미국이며 지난 2002년 10월, ‘미국의 바이오에너지와 바이오제품의비전’을 발표하였다. 미국은 2030년까지 바이오연료는 연평균 20%의 시장 확대를 목표로 하는 바이오리파이너리 산업 창출 장기 전략을 밝힌 바 있다. 또한 2020년까지 석유를 원료로 생산되는 소재의 18%, 2050년까지 50%를 바이오제품으로 대체할 계획을 밝히는 등 바이오리파이너리를 통해 거대 천연 소재 신시장을 창출하는 노력을 기울이고 있다 (Table 1). 유럽에서도 이와 유사한 움직임이 나타나고 있다. 2003년 유럽 생물산업연합(EuropaBio) 단체를 구성하고 유럽의 현실에 맞는 바이오에너지와 바이오제품의 개발 및 실용화에 나서고 있다.

Table 1. The US national vision goals for biomass technologies by the biomass Technical Advisory Committee

Year	2010	2020	2030
Biopower (Bioenergy) Biomass share of electricity and heat demand in utilities and industry	4%	5%	5%
Biofuels Biomass share of demand for transportation fuels	4%	10%	20%
Bioproducts Share of target chemicals that are biobased	12%	18%	25%

출처: Biorefineries-Industrial Processes and Products (Wiley-Vch) 2005

제 2 절 목질계바이오매스의 이용

목질계바이오매스(Lignocellulosic biomass)의 전건 중량의 상당한 부분을 5탄당과 6탄당으로 구성된 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스가 차지하고 있어 지구상에서 가장 풍부한 탄수화물을 포함하고 있는 자원이기 때문에 그 이용 가치가 높게 평가되고 있다. 목질계바이오매스로부터 얻을 수 있는 발효가능한 단당류는 셀룰로오스로부터 글루코오스, 헤미셀룰로오스로부터 자이로오스, 만노오스, 갈락토오스, 아라비노오스가 대표적이다. 목질계바이오매스를 구성하는 섬유소는 옥수수, 사탕수수와는 달리 대부분의 글루코오스와 다양한 이종의 당으로 구성되어 있어 에탄올 뿐 만 아니라 유용 가능한 고부가가치 산물을 만들 수 있는 장점을 가지고 있다 (Figure 1). 옥수수와 같은 전분계 탄수화물은 목질계바이오매스에 비해 bio-based product를 생산하기 위한 발효가능한 당으로 전환이 용이하지만 식량자원의 측면에서 그들의 이용을 줄이고 있는 실정이다. 따라서 전분계인 1세대 바이오매스를 대체할 수 있는 자원으로 탄수화물이 풍부한 2세대 목질계바이오매스를 이용한 연구가 요구되고 있는 실정이다.

최근 다시 석유고갈론(피크오일, peak oil)이 2008년에 이어 2년 만에 재등장했으며 이와 같은 사실은 뉴욕타임즈 보도(2010년 5월)에 의해 다시 한 번 확인되었다. 2008년 초 석유 공급량이 정점에 달했고 앞으로 급속도로 감소할 것이며 이로 인해 경제가 큰 타격을 입을 것이라고 주장하고 있다. 또 전 세계 채무위기와 기후변화를 일으키는 원인이 줄어드는 석유를 과도하게 사용했기 때문에 초래된 것이라고 보고 있다. 이와 같이 에너지고갈에 대한 관심은 전 세계적으로 계속 증가하고 있으며 이를 대체하기 위한 노력이 시급해졌다. 이러한 관점에서 목질계바이오매스는 이를 충족시켜주기 충분한 자원으로 자리 잡고 있다. 따라서 목질계바이오매스를 이용한 체계적인 bio-based products 전구체 생산을 위한 발효가능한 당으로의 전환 방법과 분석이 필요한 실정이다.

바이오매스로 버섯 폐배지는 연간 최소 167만 M/T이 발생하며 현재까지 적절한 이용방법이 개발되지 못하고 있다. 주로 유기농업과 원예농업에 있어서 퇴비로 사용, 지렁이 생산용 배지

로 이용, 수질개선에의 이용, 사료로 이용되고 있다. 버섯 폐배지는 회분의 함량이 10% 미만으로 매우 낮고 분쇄과정에서 에너지가 절약되는 장점을 가지고 있다. 연간 폐배지 생산량은 Table 2와 같다. 지역별로 전남 지방에서 가장 많은 폐배지가 생산되고 있다. 폐배지 중 사료적 가치가 상대적으로 높은 것은 느타리, 새송이, 팽이버섯으로 배지로는 톱밥, 폐면, 미강 등이 사용되고 있다.

버섯 폐배지는 버섯을 재배한 후 버려지는 자원으로 미생물(버섯)에 의해 1차 분해된 형태로 물리/화학적 방법으로 발효가능한 당으로의 전환이 용이하다. 따라서 이와 같은 바이오매스로부터 bio-based products 전구체 생산을 위한 발효가능한 당으로의 전환이 필요하다. 발효가능한 당은 바이오에탄올 뿐만 아니라 succinic acid, 1,3 propandiol과 같은 다양한 biochemical을 생산할 수 있다.

제 3 절 산 촉매 분해메커니즘 구명

목질계바이오매스를 이용한 전처리는 주로 헤미셀룰로오스와 리그닌을 분해하여 효소가수분해 시 셀룰로오스에 효소의 접근을 용이하게 하거나 당화 과정에서 효율적인 발효가능한 당을 생산하기 위한 목적이다. 하지만 특정 전처리 조건을 넘어서게 되면 발효가능한 당은 더욱 분해가 진행되어 당 분해산물로 검출되게 된다. 따라서 **Xylan Kinetic Modeling(XKM)**을 통한 분해 메커니즘을 구명함으로써 최적의 발효가능한 당 생산 조건을 확립할 수 있다. 이것은 바이오매스를 구성하는 헤미셀룰로오스, 리그닌 분해와 밀접한 관계가 있으며 이들 분해 과정을 전처리 조건에 따라 분석할 필요가 있다.

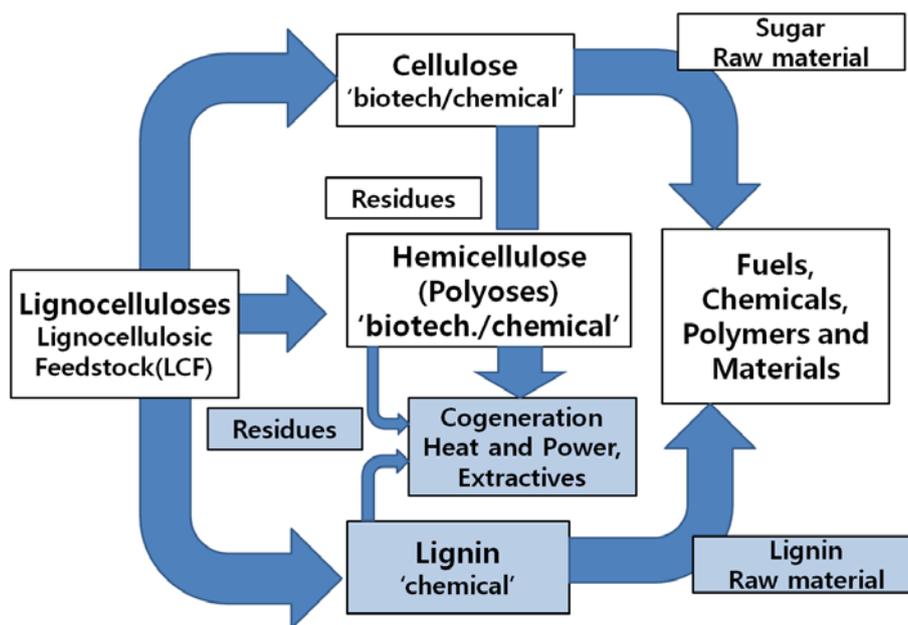


Fig. 1. Lignocellulosic biomass biorefinery.

Table 2. Calculated regional and total annual yields of spent mushroom substrates according to cultivation type (M/T)

Province	Bottle type				Vynylbag type	Bed type	Annual total
	<i>Pleurotus eryngii</i>	<i>Pleurotus osteratus</i>	<i>Flammulina velutipes</i>	Sum			
Gyeonggi	7,845	16,728	35,749	60,322	41,670	15,537	117,529
Gangwon	-	9,402	3,742	13,144	7,001	37,954	58,099
Chungbuk	2,307	8,653	9,774	20,734	5,208	19,120	45,062
Chungnam	21,041	11,956	37,334	70,331	8,007	37,595	115,933
Jeonbuk	14,297	11,496	43,603	69,396	3,940	15,380	88,716
Jeonnam	67,433	27,911	114,227	209,571	28,619	28,964	367,154
Gyeongbuk	27,737	7,632	34,391	69,760	14,427	23,048	107,235
Gyeongnam	64,056	13,924	20,857	98,840	4,396	10,264	113,500
Jeju	574	3,209	-	3,783	-	-	3,783
Metropolis	7,110	25,694	7,133	39,937	11,611	3,584	55,132
Total	212,406	136,605	306,810	655,818	124,877	191,446	972,141

(출처: 한국동물자원과학회지 2007, 49(1), 79-88)

XKM은 Saeman model과 two-fraction model이 일반적으로 사용되고 있는데 그 중 two-fraction model이 주로 사용되고 있으며(식 1) 전처리로부터 **Xylan Hydrolysis Kinetics** 는 식 (2)에 의해 산출될 수 있다. k_1 으로 진행을 촉진하면서 k_2 로 진행을 지연시키거나 진행을 억제하는 것이 무엇보다 효율적인 전처리를 수행할 수 있다. 이는 바이오매스 성분 분해에 관여하는 것으로 분해 메커니즘 이해가 요구된다. 지금까지 전처리 과정에서 바이오매스 분해는 주로 발효가능한 당으로 전환을 및 분해산물에 대한 연구에 그치고 있다. 전처리 조건, 전처리에 사용되는 화학물질에 대한 구체적인 분해 메커니즘이 제시되어야 한다. 따라서 전처리 조건에 따라 바이오매스 분해 메커니즘을 구명함으로써 최적의 전처리 조건을 확립할 수 있고 전처리 과정에 소요되는 에너지 투입량을 감소시킬 수 있는 방안을 제시 할 수 있다.

바이오매스를 구성하는 헤미셀룰로오스는 acetyl group를 포함하고 있어 헤미셀룰로오스가 가수분해 되면서 acetic acid를 생산하게 된다. Acetic acid는 발효과정에서 저해물질로 알려져 있으며 이들의 생성 메커니즘 또한 중요한 역할을 하고 있다. Acetic acid 생산을 위한 model은 식 (3, 4)에 의해 나타낼 수 있다. 결정성 영역을 포함하는 셀룰로오스는 헤미셀룰로오스보다 산 촉매의 영향이 상대적으로 크지 않다. 따라서 셀룰로오스 kinetic model은 식 (5, 6)에 따른다.

$$\text{Xylan} \xrightarrow{k_1} \text{Xylose} \xrightarrow{k_2} \text{Decomposition products} \dots \text{식(1)}$$

k_1 : xylan으로부터 xylose 방출 속도, k_2 : xylose 분해로 분해산물 생산 속도

$$M/P_0 = a \cdot \{k_1 / (k_2 - k_1)\} \cdot (e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t}) \dots \text{식(2)}$$

M: xylose, P₀: xylan, t: 가수분해 시간, α: Mass fraction of xylan

Acetyl group $\xrightarrow{k_3}$ **acetic acid** 식 (3)

k₃: acetyl group으로부터 acetic acid 방출 속도

A = **A₀(1-e^{-k₃t})** 식 (4)

A: acetic acid concentration, A₀: potential concentration of acetic acid from k₃

Glucan $\xrightarrow{k_4}$ **glucose** $\xrightarrow{k_5}$ **Decomposition products**..... 식 (5)

k₄: glucan으로부터 glucose 방출 속도, k₅: glucose 분해로 분해산물 생산 속도

G = **G₀(1-e^{-k₄t})** 식 (6)

G: glucose concentration, G₀: potential concentration of glucose from k₄

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 목질계바이오매스의 화학적 전처리

국내의 목질계바이오매스 전처리에 관한 연구는 주로 폭쇄처리에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다. 초기 폭쇄처리에 관한 연구는 목질계바이오매스의 사료화를 위한 소화율 증가를 목적으로 하였으나 이러한 목적은 최근 바이오매스를 이용한 에너지화 측면에서 이용되고 있으며 이는 효소 가수분해를 위한 효소 접근성의 증가를 목적으로 실시되어지고 있다. 뿐만 아니라 보다 효율적인 전처리 방법으로 개선하기 위해 최근 다양한 종류의 산을 촉매로 사용하는 연구도 진행되고 있다. 산을 사용하는 화학적 전처리로 목질계바이오매스를 이용한 연구는 최근 몇몇 대학 및 연구소를 중심으로 이루어지고 있다. 하지만 아직까지 바이오매스 분해 메커니즘과 발효가능한 당 생산과의 관계를 밝히기 보다는 최종적으로 생산되는 발효가능한 당으로 전처리 조건을 판단하는 기준이 되어오고 있어 바이오매스 분해 메커니즘과 발효가능한 당 생산과의 유기적인 관계를 구명하는 것이 무엇보다 필요하다.

선진국의 바이오매스 전처리에 관한 연구는 산 또는 알칼리를 이용한 화학적 전처리 공정에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다. 산에 의한 전처리 공정은 약산에 의한 전가수분해 (prehydrolysis)가 많이 연구되었는데, 이 공정은 헤미셀룰로오스를 효과적으로 제거하고 분해된 헤미셀룰로오스 구성당의 회수율도 높을 뿐만 아니라 셀룰로오스의 당화 수율도 크게 증가시켜주는 효과적인 전처리 방법이지만 산의 사용으로 인한 경제적, 환경적인 문제의 해결이 수반되어야 한다. 국외에서도 역시 정제된 셀룰로오스를 이용한 분해메커니즘과 반응 동력학적 분석이 이루어지고 있지만 아직까지 다양한 바이오매스를 대상으로 반응 동력학적 분석은 미흡한 실정이다. 발효가능한 당은 에너지, 화학약품, 플라스틱을 제조하는 전구체를 만드는 기초물질이 되기 때문에 가수분해과정에서 당분해산물로의 전환을 억제해야한다. 이러한 과정들이 지금까지는 가수분해 산물 분석에 의해 확인되었지만 분해메커니즘의 반응 동력학적 분석으로 예측할 수 있다.

제 2 절 바이오파이너리 산업

우리나라는 석유계 에너지 다소비형 산업 형태를 유지해 왔다. 뿐만 아니라 산업화에 따른 농촌 인구 감소로 인하여 산림 바이오매스 자원의 연료 사용이 급격하게 감소되어 왔다. 하지만 최근 화석연료의 고갈 및 기후변화에 따른 온실가스 감축으로 화석연료를 대신할 수 있는 다양한 신재생에너지를 이용하는 산업으로 전환되는 추세이다. 풍부한 산림자원을 확보하고 있는 우리나라에서는 목재를 포함한 다양한 목질계바이오매스를 이용한 에너지화 기술개발에 주력하고 있으며 이러한 노력은 석유에너지의 수입을 대체하고 기후변화에 대비 할 수 있을 것이다. 목질계바이오매스로부터 에너지의 상용화를 위해 대기업은 물론 정부, 학교가 바이오에너

지 개발에 힘쓰고 있다. 하지만 아직까지는 시작단계로 기술적인 측면과 학문적인 측면에는 이미 목질계바이오매스를 이용한 바이오에너지 개발에 주력하고 있는 미국, 브리질, 유럽에 비하면 더욱 체계적인 연구가 필요한 실정이다. 이와 같이 국내에서는 발효가능한 당을 이용하여 바이오에너지 생산에 주력하고 있으며 화학약품, 플라스틱과 같은 bio-based products 생산을 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 바이오매스로부터 얻어지는 발효가능한 당은 바이오에너지 뿐만 아니라 다양한 고부가가치 산물을 창출할 수 있어 더욱 그 활용범위가 확대될 것이다.

국외에서 사탕수수를 이용한 바이오에탄올 생산 기술은 브라질에서 1970년대 농업 부흥 정책의 일환으로 National Fuel Alcohol Program을 바탕으로 시작되어 1980년대에 상용화되었다. 2005년 160억 리터의 바이오에탄올이 생산되었고, 이것은 자동차 연료의 30%를 바이오에탄올로 대체할 수 있는 수준을 나타내고 있다. 이후 E22를 사용하는 자동차가 600만대 이상 생산되었으며, 대부분 주유소에서 에탄올 혼합연료 공급이 가능할 정도로 공급 인프라 구축이 완료된 상태이다. 정부에서는 가솔린과 바이오에탄올의 혼합(20-25%) 의무화와 같은 시장규제 정책과 낮은 특소세와 같은 세금우대 정책을 통해 바이오에탄올 저변 확대에 적극적인 모습을 보이고 있다.

미국에서는 2000년대 원유 의존도를 줄이기 위해서 옥수수를 이용한 바이오에탄올 생산 시설이 급격하게 건설되어 가동되고 있다. 2006년에는 162억 리터의 바이오에탄올이 생산되어 세계 제 1의 생산국이 되었으며, 21억 달러 이상의 바이오에탄올 시장이 형성되었다. 또한 2015년 524억 리터 규모의 시장 형성을 예상하고 있다. 하지만 옥수수를 이용한 바이오에탄올 생산은 더 이상 큰 장점을 가지지 못하게 되었다. 옥수수를 사용한 에탄올 생산이 증가되면서 사료용 또는 식량으로 이용될 수 있는 옥수수 생산량이 감소하게 되어 상대적으로 가격이 상승하게 되었다. 따라서 옥수수를 대체할 수 있고 지속적으로 공급이 가능한 바이오매스를 탐색하고 있으며 가장 유력한 자원으로 목질계바이오매스가 주목을 받고 있다. 이러한 이유로 옥수수 대체 바이오매스로 목질계바이오매스의 이용이 증가하고 있으며 일를 이용한 바이오리파이너리 파일럿등이 건설되면서 더욱더 바이오에탄올 생산에 주력하고 있다.

일본은 장기 시나리오에 따라 에탄올 공급 및 체제 정비를 진행하여 에탄올 보급 인프라에 3,500억 엔 이상을 투자하고 있으며 일본 환경성 계획에 의하면 2012년까지 휘발유 수요의 50%를 E3로 대체하고, 2020년 E10 공급을 시작하여 2030년 전량 E10 사용을 계획하고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용

바이오매스의 물리 화학적 특징 분석: 목질계바이오매스는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌이 그 주성분이며, 소량의 추출물을 함유하고 있다. 특히 목재에서 활엽수는 약 70%이상의 전섬유소와 23% 정도의 리그닌을 포함하고 있다. 따라서 침엽수보다 높은 섬유소와 낮은 리그닌을 함유하고 있어 효율적인 전처리 효과를 기대할 수 있다. 특히 헤미셀룰로오스는 이중의 당으로 구성되어 있어 구성당 함량에 따라 발효가능한 당으로 전환 효율이 다르기 때문에 화학적 성분분석을 통하여 발효가능한 당을 예측할 수 있다. 뿐만 아니라 밀짚, 벼짚, 갈대와 같은 바이오매스는 목재와 그 구성분의 함량이 다르기 때문에 서로 다른 결과를 예측할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 꽃송이 버섯을 재배한 후 버려지는 폐배지와 현재 국내에서 톱밥 재배로 가장 많이 재배되고 있는 표고버섯 폐배지를 대상으로 전처리를 수행하기 전 바이오매스의 화학적 특징을 분석하고자 한다.

화학적 성분 분석은 TAPPI method (T-222-om-88)에 의해 분석한다. 1mm 스크린을 통과한 분쇄된 바이오매스는 45°C에서 건조한 후 일정한 함수율을 유지하게 하고 분쇄된 바이오매스 50 mg에 3 ml의 72% 황산을 첨가하여 30°C에서 1시간 반응 시킨 후 황산의 농도를 4%로 희석하여 120°C에서 1시간 가수분해를 수행한다. 가수분해 후 2 ml의 sample을 취하여 0.45 ul filter를 이용하여 여과한 후 단당류 분석을 수행한다.

산 촉매 선정 및 가수분해조건: 기존의 황산은 장치의 부식 및 회수 방법 등 down stream에 큰 영향을 미치고 있어 이를 대체하고자 하는 연구가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 산 촉매로는 황산과 이를 대체할 수 있는 유기산(oxalic acid)을 이용하고자 한다. Oxalic acid의 두 개의 카르복실기는 효소의 바이오매스 분해 작용을 흉내 내는 역할(biomimetic catalysis)을 한다고 알려져 있다. 특히, oxalic acid는 목재부후균이 분비하는 유기산으로 목재성분을 분해하는데 관여한다는 연구가 보고 되고 있다. 하지만 유기산에 의한 바이오매스 분해메커니즘은 밝혀지지 않고 있다. 따라서 기존의 황산 촉매 전처리와 비교하여 분해메커니즘의 차이점을 밝히고자 한다. 가수분해 조건으로는 온도, 시간 산 촉매 농도에 따른 분해산물을 분석한다. 본 연구에서는 가수분해 온도 120~150°C에서 헤미셀룰로오스 모델물질인 xylan에 대한 가수분해를 실시한 후 가수분해 결과를 바탕으로 버섯 폐배지 가수분해 조건을 설정하였다.

가수분해 산물 분석: 전처리 수행 후 발생하는 액상 가수분해산물에 포함되어 있는 단당류 및 올리고머 함량을 분석하고 당 분해가 더욱 진행되어 생산된 5-HMF 함량을 분석한다. 올리고머의 함량은 처리 조건, 산 촉매 종류에 따라 차이가 있을 것으로 예상되어지며 이는 바이오매스 분해 메커니즘과 밀접한 관계가 있을 것으로 예측할 수 있다. 특히 전처리 후 셀룰로오스 분해 거동을 살펴보기 위해 HPSEC (High-Performance Size-Exclusion Chromatography)와 MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight) mass spectrometry를 이용하여 분

해산물 분자량 분포를 살펴본다. 분자량 분포는 HPSEC에 RI-detector를 이용하여 high Mw(DP>25), medium Mw(DP=9-25), low Mw(DP<9)으로 나누어 확인할 수 있으며 보다 정확한 분석을 위해 MALDI-TOF mass 분석으로 분자량에 따른 acetylated xylan의 분포를 확인할 수 있다. 이와 같은 분석으로 발효가능한 당 뿐만 아니라 효소가수분해의 접근성을 높이기 위한 경제적인 전처리 조건을 탐색할 수 있을 것으로 사료된다.

헤미셀룰로오스 반응 동력학적 분석: 산 촉매 농도가 증가하면서 바이오매스의 xylan으로부터 xylose 생산은 증가한다. 선행연구결과에 따르면 어느 severe 한 전처리 조건에서부터 xylose 생산량이 증가하지 않고 일정하거나 감소하는 경향을 볼 수 있다. 이는 xylan로부터 분해된 xylose가 열화학적으로 더욱 분해가 진행되어 furfural로 되었음을 간접적으로 나타내주는 결과이다. 뿐만 아니라 산 촉매 종류에 따라 xylose 생산량이 증가하지 않고 일정하게 유지되는 전처리 조건이 다르며 이는 각 산 촉매와 바이오매스의 분해 기작에서부터 야기되는 결과이다. 따라서 xylan에서 xylose, xylose에서 furfural로 분해 거동을 알아보기 위해 각각 k_1 , k_2 에 해당하는 분해율을 측정하여 α , r^2 을 유추할 수 있으며 식 (1, 2)를 바탕으로 α 값은 최대 xylose 수율과 비슷한 경향임을 알 수 있다. Xylose 생산량을 최대로 하면서 furfural 생산을 최소로 하는 조건을 xylan 분해 거동을 통해 확립할 수 있을 것이다.

셀룰로오스 반응 동력학적 분석: 셀룰로오스는 가수분해시 최종적으로 글루코오스가 생성되며 전처리 조건의 정도에 따라 당은 더욱 분해되어 5-HMF가 생성된다. 셀룰로오스에서 5-HMF가 생성되는 반응은 condensation reaction으로 분해 첫 단계로 “fast reaction”이라 하며 단시간에 이루어진다. 이후 5-HMF는 분해가 더욱 진행되어 levulinic acid와 formic acid를 생성한다. 이와 같은 반응은 “slow reaction”으로 반응시간이 길다. 최종 산물에 따라 셀룰로오스가 가수분해정도를 전처리 조건으로 조절할 수 있으며 이러한 기작을 분해거동을 통해 확립하고자 한다. 따라서 발효가능한 당의 분해가 더욱 진행되지 않도록 산 촉매 종류에 따른 최적의 전처리 조건을 구명한다.

제 2 절 연구결과

1. 모델물질 xylan 분해거동

가. 반응온도에 따른 xylan 분해거동

120℃에서 서로 다른 산 촉매를 이용하여 xylan을 가수분해 하였을 때 분해거동은 Fig. 2, Table 3과 같다. 모든 농도에서 sulfuric acid 촉매를 사용하였을 경우 xylose 생산이 촉진되었음을 확인하였다. 다음으로 oxalic acid, maleic acid의 순으로 나타났다. 저농도인 25 mM에서는 가수분해가 느리게 진행되어 sulfuric acid 촉매에서 80분간 반응하였을 때 최대 1.26 g/l의 xylose를 생성하였다. 50-100 mM까지 반응시간이 증가함에 따라 촉매에 따른 xylose 생성에 큰 차이를 보였으나 150 mM의 고농도 산 촉매에서는 그 차이가 줄어들었음을 확인하였다. 이것은 sulfuric acid 촉매에서 생성된 xylose가 분해산물로 분해되어 나타난 결과로 사료된다.

120°C에서 각 촉매와 농도에 따른 반응속도상수(k_1)를 비교하면, oxalic acid와 maleic acid는 150 mM에서 최대 반응속도상수(k_1)를 나타낸 반면 sulfuric acid의 경우 100 mM에서 0.0241 min⁻¹으로 가장 높은 반응속도상수(k_1)를 나타냈다. 이것은 100 mM에서 최대 xylose 생성이 이루어져 150 mM 농도에서는 생성된 xylose가 분해되어 반응속도상수가 감소한 것을 나타낸다. 반응시간에 따른 분석결과 50 mM까지는 짧은 반응시간에서는 촉매에 따라 xylose 생성에 큰 차이를 보이지 않았으나 100 mM 이상에서는 짧은 반응시간에서도 촉매에 따라 xylose 생성에 큰 차이를 나타냈다.

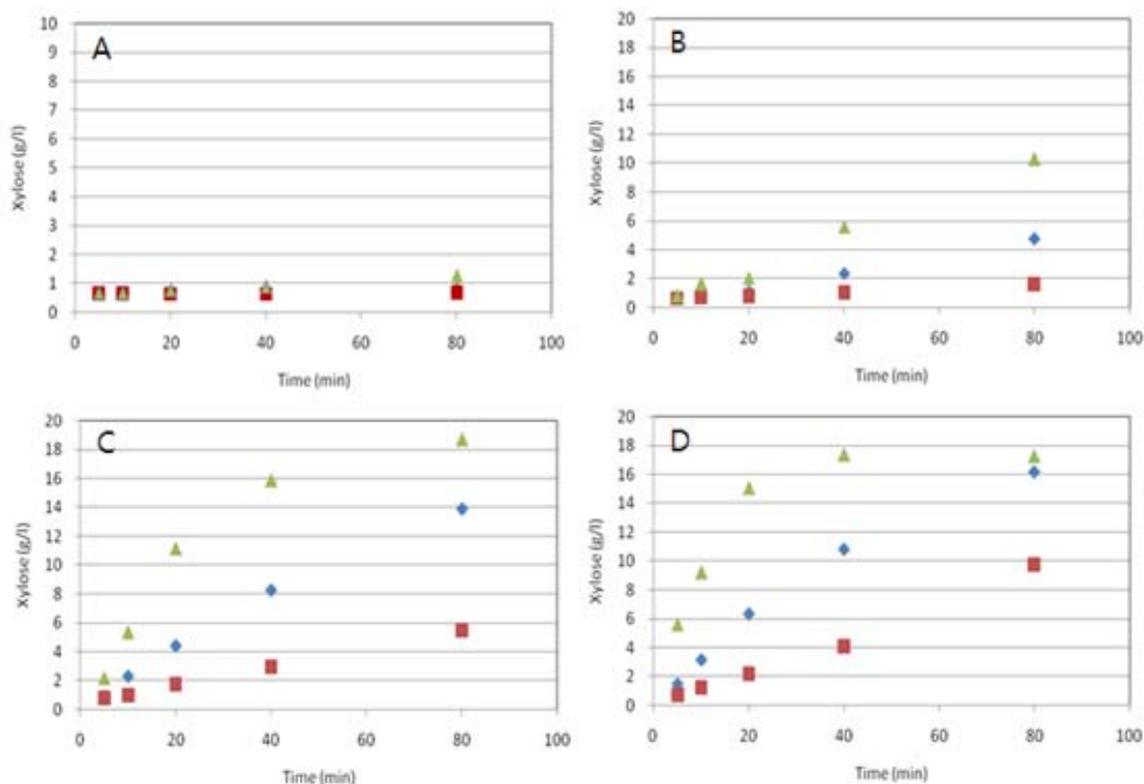


Fig. 2. Effect of acid catalyst concentration and reaction time on xylan hydrolysis at 120°C (A: 25 mM, B: 50 mM, C: 100 mM, D: 150 mM, ▲:sulfuric acid, ◆:oxalic acid, ■:maleic acid).

Table 3. Value of k_1 for xylan hydrolysis at different acid catalyst and concentration (120°C) (unit: min⁻¹)

Concentration (mM)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	0.0003	0.0002	0.0005
50	0.0035	0.0011	0.0087
100	0.0124	0.0035	0.0241
150	0.0168	0.0072	0.0184

130°C에서 산 촉매 농도에 따른 xylan의 분해거동 결과는 Fig. 3, Table 4와 같다. 촉매 농도 및 반응시간에 관계없이 sulfuric acid 촉매에서 높은 xylose 생성을 나타냈으며, 100 mM 이상에서 sulfuric acid는 짧은 반응시간에 높은 xylose를 생성하였다. 반면 반응시간이 길어지면서 xylose 생성은 감소하였으며 xylose 분해를 유도하였다. 반응속도상수(k_1)를 비교한 결과 oxalic acid와 sulfuric acid에서는 100 mM에서 최대 반응속도상수(k_1)를 나타냈고 maleic acid는 0.0190 min⁻¹로 150 mM에서 가장 높은 값을 나타냈다. Sulfuric acid 최대 반응속도상수는 120°C와 비교하여 낮은 값을 나타냈다. 따라서 sulfuric acid 촉매를 이용하여 가수분해를 수행할 경우 120°C가 적합한 것으로 사료된다.

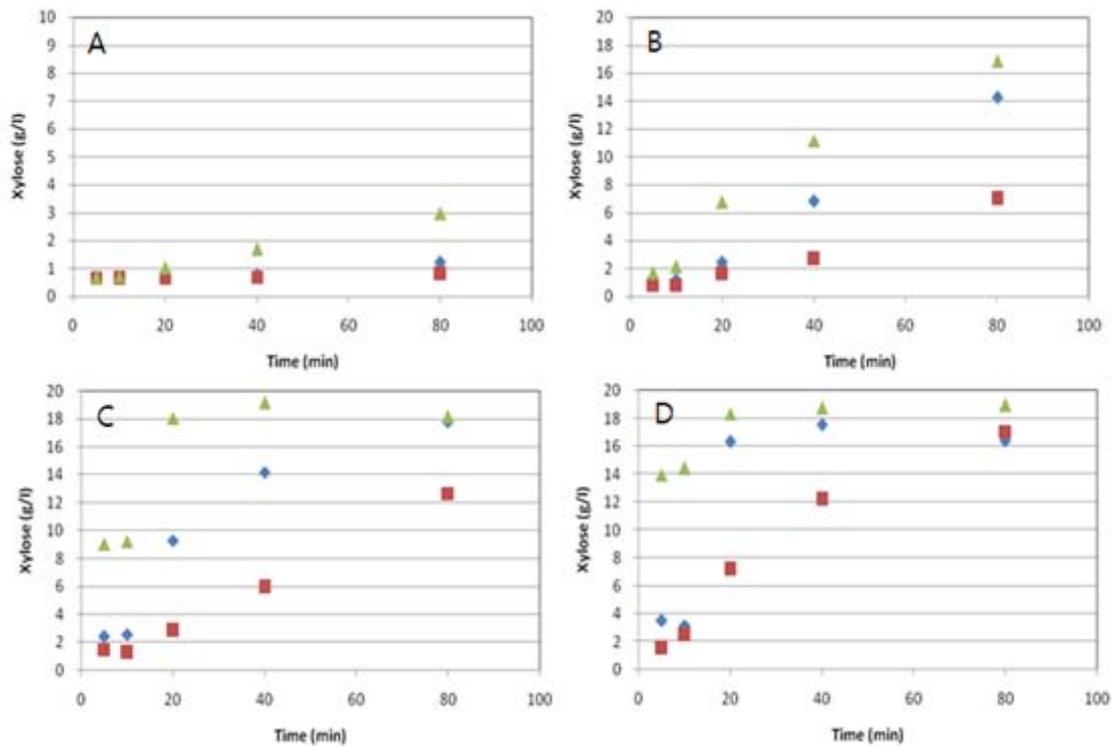


Fig. 3. Effect of acid catalyst concentration and reaction time on xylan hydrolysis at 130°C (A: 25 mM, B: 50 mM, C: 100 mM, D: 150 mM, ▲:sulfuric acid, ◆:oxalic acid, ■:maleic acid).

Table 4. Value of k_1 for xylan hydrolysis at different acid catalyst and concentration (130°C) (unit: min⁻¹)

Concentration (mM)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	0.0005	0.0003	0.0017
50	0.0130	0.0045	0.0183
100	0.0212	0.0105	0.0204
150	0.0180	0.0190	0.0187

140°C에서 서로 다른 산 촉매를 이용하여 가수분해 하였을 때 xylan의 분해거동은 Fig. 4, Table 5와 같다. 25 mM에서는 촉매종류와 반응시간에 관계없이 낮은 농도의 xylose가 생성되었다. 100 mM 이상에서 sulfuric acid 촉매는 짧은 반응시간에 최대 xylose 생성을 보였으며 촉매간의 xylose 생성의 차이는 120°C, 130°C와 비교하여 감소하였다. 반응속도상수(k_1) 측면에서 oxalic acid, sulfuric acid는 50 mM에서 최대값을 나타냈으며 maleic acid는 150 mM에서 0.0195 min^{-1} 로 최대값을 나타냈다. Oxalic acid 반응속도상수 최대값은 130°C에서보다 낮은 값을 나타내어 oxalic acid 촉매에 대한 최적반응온도는 130°C로 사료된다.

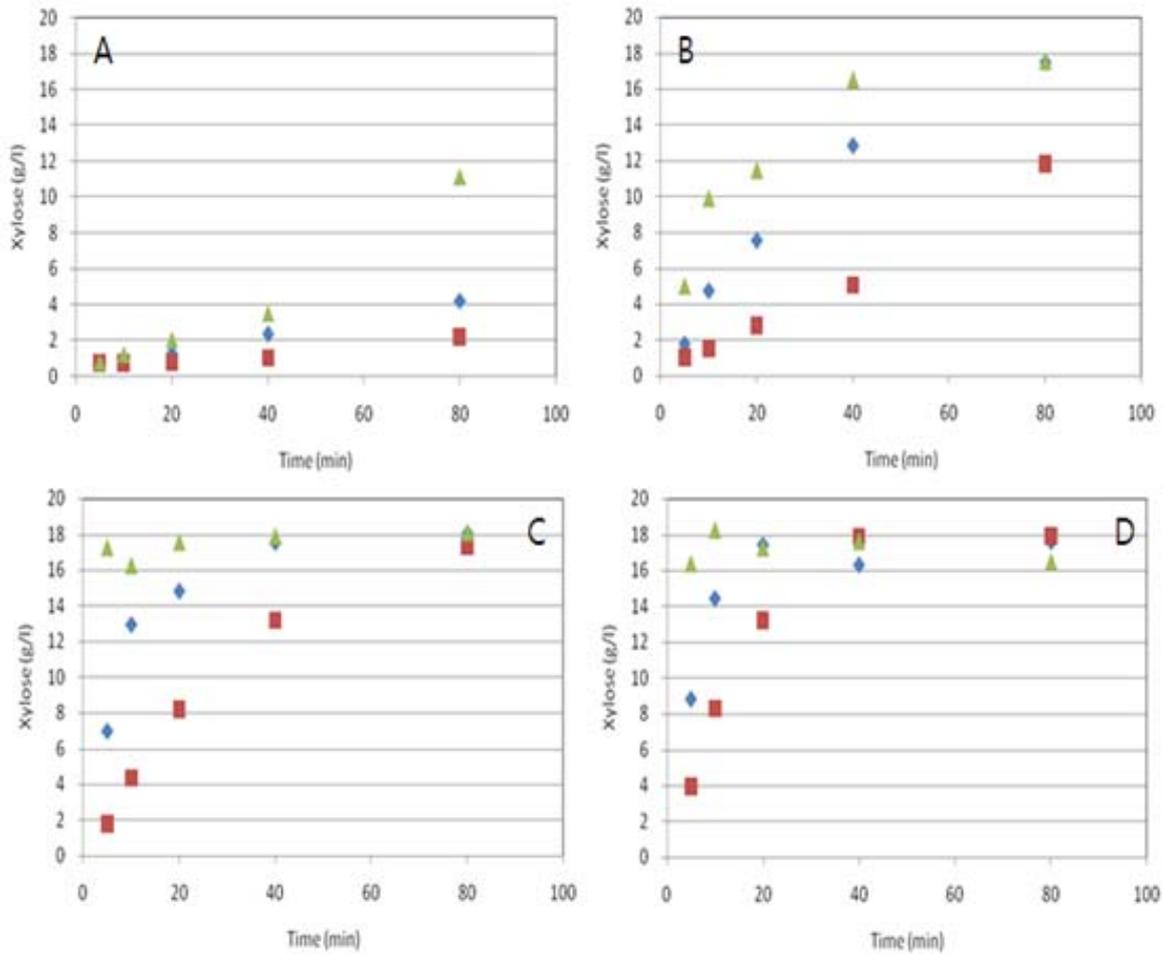


Fig. 4. Effect of acid catalyst concentration and reaction time on xylan hydrolysis at 140°C (A: 25 mM, B: 50 mM, C: 100 mM, D: 150 mM, ▲:sulfuric acid, ◆:oxalic acid, ■:maleic acid).

Table 4. Value of k_1 for xylan hydrolysis at different acid catalysist and concentration (14 0°C) (unit: min^{-1})

Concentration (mM)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	0.0025	0.0011	0.0084
50	0.0196	0.0094	0.0190
100	0.0191	0.0195	0.0120
150	0.0152	0.0214	0.0071

150°C에서 산 촉매 종류에 따른 xylan의 분해거동은 Fig. 5, Table 6과 같다. 50 mM 이상에서 sulfuric acid와 oxalic acid는 짧은 반응시간에 최대 xylose가 생성되었으며 maleic acid는 80분 반응에도 xylose 생성은 약 16 g/l를 나타냈다. 반면 100 mM이상에서는 산 촉매 종류에 관계 없이 최대 xylose 생성을 나타냈으며 특히 sulfuric acid는 반응시간이 증가함에 따라 xylose 생성이 감소됨을 확인할 수 있었다. 반응속도상수(k_1) 측면에서 oxalic acid는 50 mM, sulfuric acid는 25 mM에서 최대값을 나타냈으며 maleic acid는 100 mM에서 최대값을 나타냈다. 하지만 반응온도에 따른 결과를 비교하면 140°C에서 0.0214 min^{-1} 으로 최대값을 나타내어 maleic acid 촉매에 대한 반응온도는 140°C가 적합하다.

종합하면 xylan에서 xylose 생성에는 촉매의 종류와 반응온도에 따라 서로 다른 반응속도상수 (k_1)를 나타냈으며 최대값 또한 서로 다른 조건에서 나타났다. 따라서 효율적인 xylose 생성을 위해서는 각각의 최적의 조건에서 가수분해가 진행되면 바람직할 것을 사료된다. 이와 같은 결과는 기존의 결과와 유사하였다.

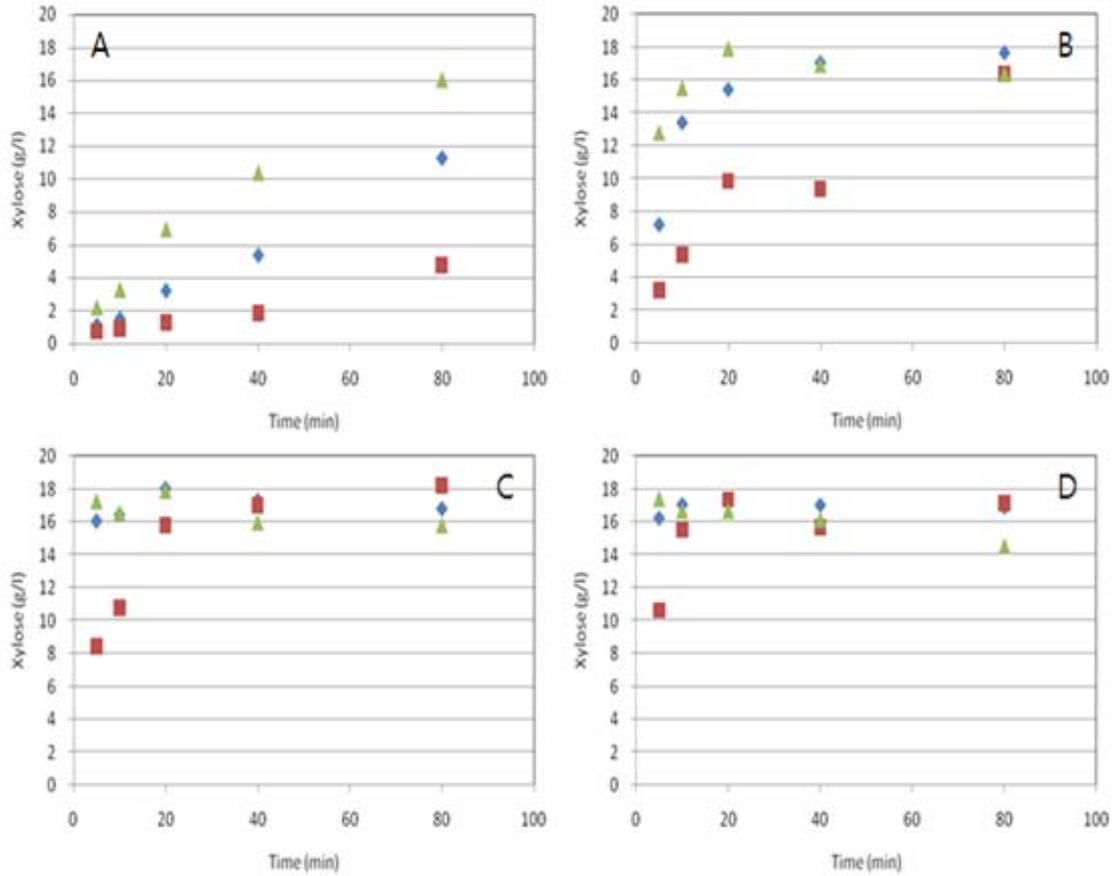


Fig. 5. Effect of acid catalyst concentration and reaction time on xylan hydrolysis at 150°C (A: 25 mM, B: 50 mM, C: 100 mM, D: 150 mM, ▲:sulfuric acid, ◆:oxalic acid, ■:maleic acid).

Table 6. Value of k_1 for xylan hydrolysis at different acid catalyst and concentration (15 0°C) (unit: min^{-1})

Concentration (mM)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	0.0087	0.0028	0.0159
50	0.0172	0.0155	0.0103
100	0.0090	0.0194	0.0051
150	0.0087	0.0126	0.0031

나. Xylose로부터 furfural 생성에 대한 분해거동

반응온도, 산 촉매 종류에 따라 xylan 가수분해 과정에서 생성된 furfural 분석으로 xylose에서 furfural로의 반응속도상수(k_2)를 구하였으며, 결과는 Table 7, 8, 9와 같다.

120°C에서 oxalic acid와 maleic acid에 의한 xylose로부터 furfural 생성은 모든 농도에서 이루어지지 않았다. 하지만 sulfuric acid 150 mM에서 0.23 g/l의 furfural이 검출되었다. 따라서 낮

은 반응온도에서는 산 촉매 농도와 반응시간에 관계없이 xylose로부터 furfural 생성을 거의 이루어지지 않았다. 이것은 xylan으로부터 xylose 생성에 대한 결과에서 확인하였듯이(Fig. 3) xylan으로부터 낮은 농도의 xylose가 생성되었기 때문이다.

130°C에서 oxalic acid와 maleic acid 촉매로 가수분해하였을 때 120°C와 마찬가지로 furfural을 발견할 수 없었다. 하지만 sulfuric acid의 경우 50 mM에서부터 furfural이 검출되었으며 산 촉매 농도가 높아질수록 반응속도상수(k_2)가 증가하였다. 하지만 xylan으로부터 xylose 생성에 대한 결과와 비교 분석하면 sulfuric acid 촉매의 경우 50 mM에서 xylose 생성은 최대 16.85 g/l을 나타냈으며 xylose 생성과 함께 0.42 g/l의 furfural 생성이 이루어졌음을 확인할 수 있다. 하지만 oxalic acid의 경우 150 mM에서 최대 17.54 g/l의 xylose를 생성하였지만 furfural은 생성되지 않았다. 이것은 기존 연구결과에서 언급한 것과 같이 oxalic acid, maleic acid와 같은 dicarboxylic acid가 가수분해 과정에서 당에서 furfural과 같은 당분해산물 생성을 저해한다는 결과와 일치하였다.

140°C에서의 furfural 생성은 모든 산 촉매에서 나타났다. 다른 산 촉매 비교하여 sulfuric acid 촉매 100 mM에서 150 mM까지 반응속도상수(k_2)는 급격하게 증가하였다. 즉 xylose에서 furfural로의 분해가 급속하게 진행되었음을 나타내고 있다. 130°C의 결과와 마찬가지로 sulfuric acid 촉매에서 xylose에서 furfural로 분해가 빠르게 진행됨을 확인하였다.

150°C에서 furfural 생성은 oxalic acid, maleic acid의 25 mM를 제외하고 모든 조건에서 이루어졌다. 반응속도상수(k_2)를 분석한 결과 sulfuric acid는 농도에 따른 그 값이 급격하게 증가하였으며 xylose 생성과 관련하여 다른 산 촉매 보다 높은 반응속도상수(k_2)를 나타냈다.

따라서 xylose와 furfural 생성에 반응속도상수 측면에서 sulfuric acid는 고농도의 xylose 생성을 유도하지만 동시에 furfural 생성을 동반하여 당분해산물 생성을 억제하고 최대의 당을 생산하기에는 oxalic acid, maleic acid가 적합한 촉매로 사료된다.

Table 6. Value of k_2 for xylose degradation at different acid catalysts and concentration (130°C) (unit: min^{-1})

Concentration (Mm)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	-	-	-
50	-	-	0.0026
100	-	-	0.0040
150	-	-	0.0062

Table 7. Value of k_2 for xylose degradation at different acid catalysts and concentration (140°C) (unit: min^{-1})

Concentration (Mm)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	-	-	-
50	-	-	0.0037
100	0.0042	-	0.0076
150	0.0058	0.0024	0.0165

Table 8. Value of k_2 for xylose degradation at different acid catalysts and concentration (150°C) (unit: min^{-1})

Concentration (Mm)	Oxalic acid	Maleic acid	Sulfuric acid
25	-	-	0.0039
50	0.0078	0.0032	0.0071
100	0.0091	0.0080	0.0187
150	0.0154	0.0078	0.0237

다. Xylan 가수분해에 대한 반응동력학 모델

반응동력학 인자를 위해 $\ln(k)$ 와 $1/T$ 에 대한 관계를 Fig. 6에 나타냈다. 각각의 활성화 에너지는 아레니우스의 식에 의해 구하였다. 본 연구에서 xylose에서 furfural생성에 대한 반응동력학 모델은 제시하지 못하였다. 그 이유는 furfural 생성이 모든 조건에서 이루어지지 않았기 때문이다. Xylan에서 xylose 생성에 대해서도 100 mM과 150 mM에서 얻어진 실험값과 반응동력학 모델 사이에 큰 차이를 나타내어 25 mM과 50 mM에 대한 반응동력학 모델을 제시하였다. 고농도의 산 촉매에서는 xylan으로부터 xylose 생성이 짧은 반응시간에 이루어져 정확한 반응동력학 모델을 유도하기 어려웠다. 25 mM에서는 모든 산 촉매에서 높은 R^2 값을 나타내어 반응동력학 모델과 실험값이 높은 수준으로 일치하였다. 하지만 50 mM에서는 maleic acid에서 높은 R^2 값을 나타낸 반면, oxalic acid와 sulfuric acid에서 상대적으로 낮은 R^2 값을 나타냈다. 활성화 에너지 측면에서 기존 hemicellulose 가수분해에서와(44~180 kJ/mol) 유사한 활성화 에너지를 얻을 수 있었다. 25 mM에서 sulfuric acid를 이용하였을 때 xylose로 분해하는데 가장 많은 에너지가 소모됨을 예측할 수 있다.

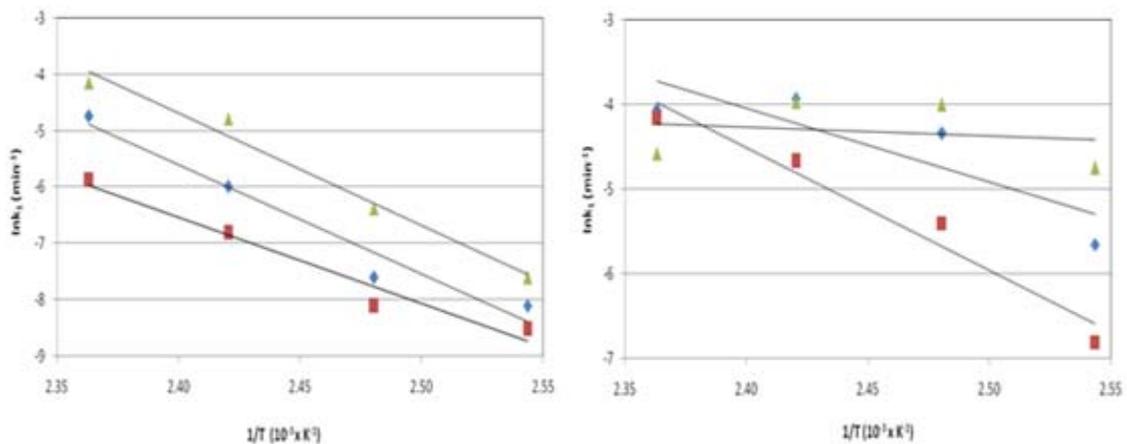


Fig. 6. Arrhenius plot of xylose degradation by different acid catalysts and (left: 25 mM, right: 50 mM, ▲:sulfuric acid, ◆:oxalic acid, ■:maleic acid).

2 버섯 폐배지 산 가수분해 거동

가. 산 촉매 종류에 따른 꽃송이 버섯 폐배지 가수분해

꽃송이 버섯 폐배지는 갈색부후균으로 알려진 *Sparassis crispa*를 배양하여 얻어진 자실체를 수확한 후 얻어진 농업 부산물이다. 갈색부후균의 전형적인 특징인 헤미셀룰로오스 분해 효소를 배양과정에서 분비하게 되어 버섯 폐배지에는 셀룰로오스와 리그닌이 대부분이다. 따라서 산 촉매를 이용하여 가수분해를 수행할 결과 가수분해산물에서 고농도의 glucose가 검출되었다 (Fig. 7). 반면 헤미셀룰로오스로부터 유래된 xylose는 상대적으로 낮은 농도로 검출되었다. Sulfuric acid (50 mM, pH 1.22), oxalic acid (100 mM, pH 1.26)를 촉매로 서로 다른 온도에서 반응시간에 따라 가수분해를 수행한 결과 glucose 생산에는 촉매에 따른 차이를 나타냈지만 xylose 생산에서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 낮은 반응온도에서 glucose의 생산이 반응시간에 따라 지속적으로 증가하였지만 반응온도가 높아질수록 glucose 생산은 일정 반응시간 이후 유지되거나 감소하는 경향을 나타냈다. 이것은 glucose의 분해가 더욱 진행되어 분해산물로 전환되었음을 나타내고 있다. Xylose의 생산에서도 높은 온도에서 일정 반응시간 후에는 xylose 생산이 더 이상 이루어지지 않았으며 xylose의 분해가 유도되었음을 확인 할 수 있었다.

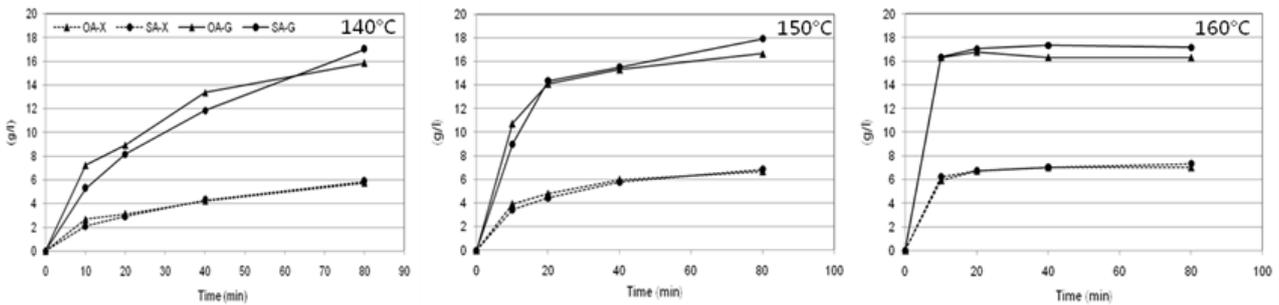


Fig. 7. Effect of temperature and reaction time on xylan and glucan hydrolysis of waste mushroom (OA: oxalic acid, SA: sulfuric acid, X: xylose, G: glucose).

반응속도측면에서 분석한 결과 Table 9와 같다. Xylan에서 xylose 분해에 관여하는 반응속도상수는 160°C에서 sulfuric acid를 이용하였을 때 0.48 min^{-1} 로 가장 높게 나타났으며 oxalic acid에서도 유사한 값을 나타냈다. Glucan에서 glucose 분해에 관여하는 반응속도상수는 160°C, sulfuric acid에서 0.072 min^{-1} 으로 높게 나타났으며 oxalic acid는 상대적으로 낮은 값을 나타냈다. 이것은 낮은 반응온도에서 버섯 폐배지 가수분해에 있어서 oxalic acid는 sulfuric acid와 유사한 가수분해 효과를 가지고 있음을 확인할 수 있었다. 하지만 높은 반응온도에서는 sulfuric acid 촉매를 이용하였을 때 높은 반응속도상수를 나타내고 있음을 확인하였다. 따라서 촉매 종류에 따라 서로 다른 최적의 가수분해 조건을 가지고 있음을 확인하였다.

Table 9. Value of k_1 for waste mushroom hydrolysis at different acid catalyst and temperature (unit: min^{-1})

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Xylan to xylose		Glucan to glucose	
	Sulfuric acid	Oxalic acid	Sulfuric acid	Oxalic acid
140	0.015	0.017	0.031	0.025
150	0.030	0.032	0.051	0.045
160	0.048	0.046	0.072	0.048

나. 가수분해과정에서 xylose, glucose 분해거동

가수분해과정에서 산 촉매에 따라 xylose, glucose 생산은 큰 차이를 나타내지 않았지만 xylose, glucose로부터 분해산물 생산에는 산 촉매에 따라 차이를 나타냈다. 같은 반응온도에서 sulfuric acid 촉매를 사용하였을 때 furfural, 5-hydroxymethylfurfural의 생산이 촉진되었으며 반응온도가 증가할수록 산 촉매 사이에 더욱 큰 차이를 나타냈다. 가수분해 조건에 따른 분해산물 생산에 대한 결과는 Fig. 8과 같다. 특정 반응시간 (10 분) 이후 xylose, glucose 분해산물의 경향은 차이를 나타냈으며 이것은 sulfuric acid를 사용하였을 때 분해산물로 분해가 촉진됨을 나타내고 있다.

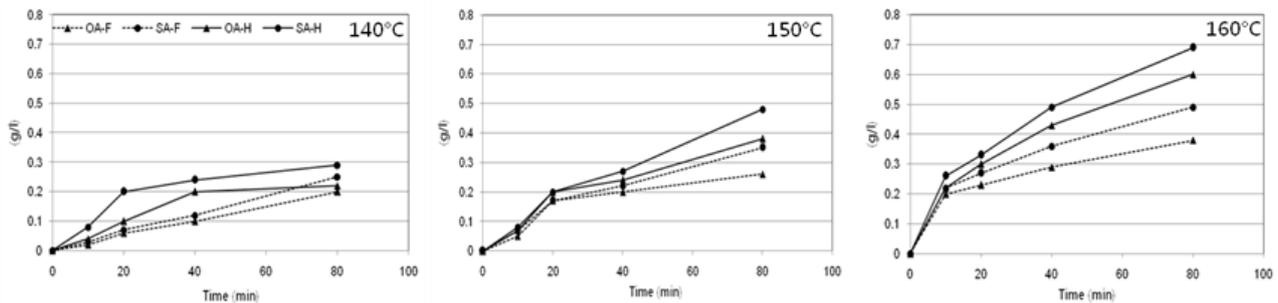


Fig. 8. Effect of temperature and reaction time on xylose and glucose degradation of waste mushroom (OA: oxalic acid, SA: sulfuric acid, F: furfural, H: 5-hydroxymethylfurfural).

반응속도측면에서 분석한 결과 Table 10과 같다. Sulfuric acid 촉매로 160 $^{\circ}\text{C}$ 에서 가수분해를 수행하였을 때 xylose에서 furfural로 분해되는 반응속도상수는 0.047 min^{-1} 로 가장 높았으며 glucose에서 HMF로의 분해속도상수 또한 0.053 min^{-1} 로 oxalic acid에서보다 높게 나타났다. 이것은 생성된 xylose나 glucose에서 분해산물로 분해가 더욱 쉽게 이루어지고 있다는 것으로 유용한 당 생산을 위해서는 oxalic acid 촉매가 sulfuric acid보다 적합하다는 것을 의미한다. 일반적으로 산 촉매를 이용한 바이오매스 가수분해과정에서는 유용한 당 뿐만 아니라 당 분해산물을 포함한다. 따라서 당 생산을 최대, 당분해산물 생산을 최소로 하여 유용한 당 생산을 극대화 할 수 있다.

Table 10. Value of k_2 for waste mushroom hydrolysis at different acid catalyst and temperature (unit: min^{-1})

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Xylose to furfural		Glucose to HMF	
	Sulfuric acid	Oxalic acid	Sulfuric acid	Oxalic acid
140	0.008	0.006	0.006	0.004
150	0.014	0.009	0.014	0.009
160	0.047	0.016	0.053	0.023

다. 산 촉매에 의한 바이오매스 가수분해의 동력학적 분석

반응동력학분석을 위해 $\ln(k)$ 와 $1/T$ 에 대한 관계를 Fig. 9, Table 11에 나타냈다. 각각의 활성화 에너지는 아레니우스의 식에 의해 구하였다. Xylan에서 xylose 생성에 높은 R^2 값을 나타내어 실험값과 반응동력학 모델이 일치함을 나타냈다. Xylan에서 xylose 생성에 필요한 활성화 에너지는 sulfuric acid, oxalic acid에서 각각 69.1, 59.1 kJ/mol을 나타내고 있어 sulfuric acid를 사용하였을 때 많은 에너지가 소모됨을 확인하였다. Glucan으로부터 glucose 생성에 관여하는 활성화 에너지도 oxalic acid에서보다 sulfuric acid에서 높게 나타났으며 이것은 동일한 반응조건에서 xylose, glucose 생성에 있어서 oxalic acid 촉매가 효율적이라는 것을 간접적으로 나타내주고 있다. Xylose에서 furfural 생성에 관여하는 활성화 에너지는 sulfuric acid에서 105.1 kJ/mol, oxalic acid에서 58.2 kJ/mol을 나타내고 있으며 glucose 분해에 관여하는 활성화 에너지도 sulfuric acid에서 높게 나타났다.

같은 가수분해 조건에서도 촉매의 종류에 따라 xylose, glucose 생산에 차이를 나타냈으며 분해산물생산에도 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 이와 같은 분해거동 분석은 리그노셀룰로오스계 바이오매스 가수분해에 있어 기본적인 자료를 제공할 것이며 유용한 당 생산을 위해 충분히 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

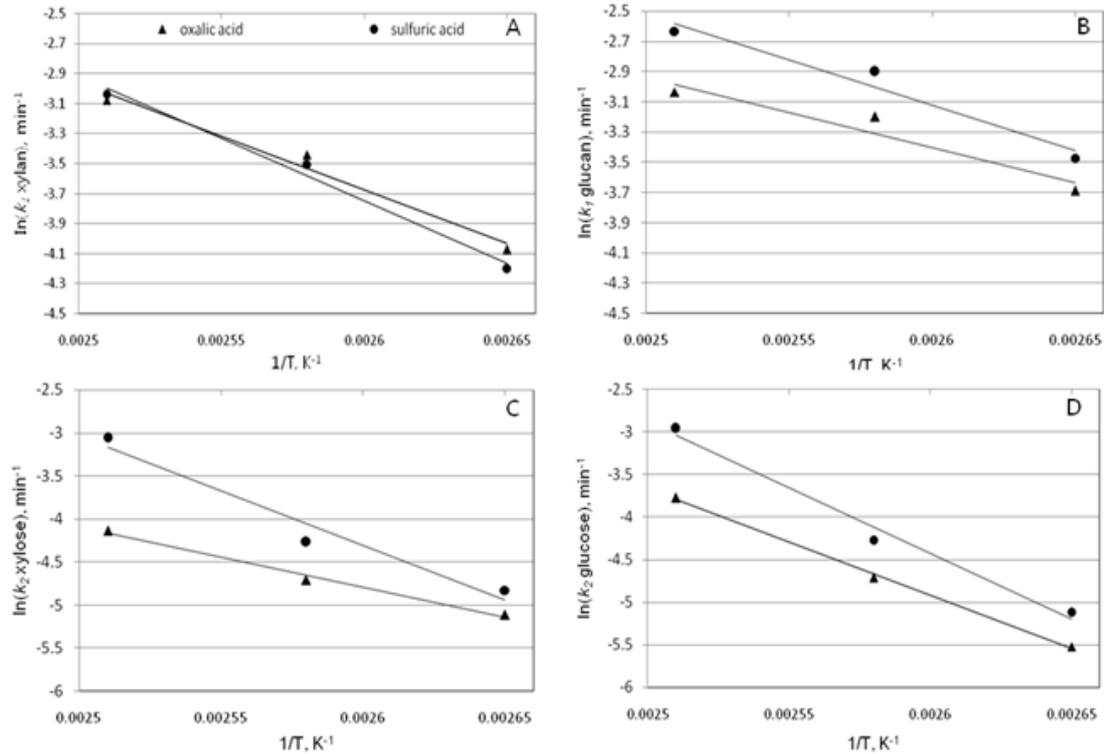


Fig. 9. Arrhenius plot of xylan (A), glucan (B), xylose (C) and glucose (D) degradation by different acid catalysts and temperature.

Table 11. Kinetic parameters for waste mushroom hydrolysis

Hydrolysis	Acid catalysts	Pre-exponential factor (min^{-1})	Activation energy (kJ/mol)	R^2
Xylan to xylose	Sulfuric acid	2.30×10^7	69.1	0.99
	Oxalic acid	1.16×10^{11}	59.1	0.98
Glucan to glucose	Sulfuric acid	2.74×10^5	50.0	0.94
	Oxalic acid	3.95×10^6	38.7	0.96
Xylose to furfural	Sulfuric acid	2.58×10^{12}	105.1	0.97
	Oxalic acid	6.73×10^5	58.2	0.99
Glucose to HMF	Sulfuric acid	3.13×10^{15}	128.2	0.98
	Oxalic acid	9.31×10^{11}	103.9	0.99

라. 산 촉매에 의한 표고버섯 폐배지 가수분해 거동

산 촉매에 의한 표고버섯 가수분해 결과는 Fig. 10과 같다. 꽃송이 버섯 폐배지와는 다르게 가수분해에 포함된 xylose, glucose 농도는 낮았다. 이것은 버섯 종균에 의한 버섯 재배기간 동안 일어나는 서로 다른 바이오매스 분해 양상을 나타내기 때문이다. 표고버섯 종균은 백색부후균으로 주로 목재의 리그닌을 우선적으로 분해한다. 갈색부후균인 꽃송이 버섯 종균과는 다른 효소시스템을 가지고 있어 버섯 폐배지의 바이오매스 성분이 서로 다르게 나타났다. 산 촉매 가수분해에 의해 가장 높은 반응온도에서도 낮은 가수분해 효율을 나타냈다. 반응온도가 증가함에 따라

glucan의 분해가 가속화 되었지만 생성된 glucose의 농도는 최대 6 g/l 미만으로 나타났다.

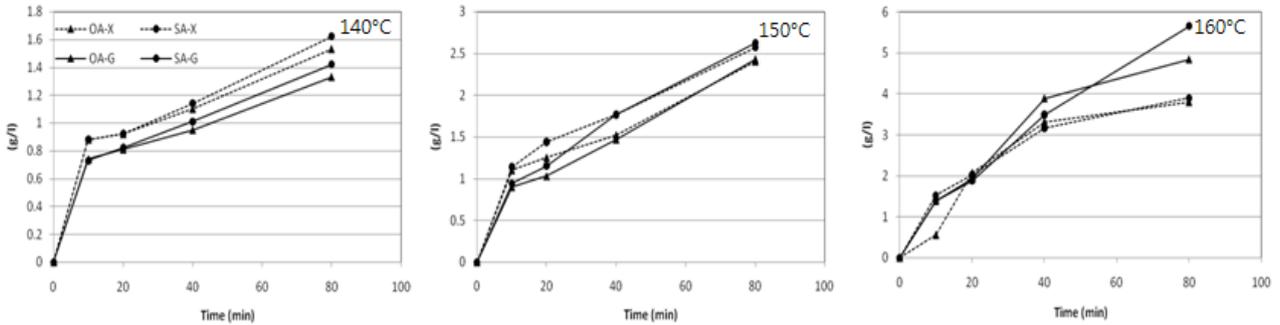


Fig. 10. Effect of temperature and reaction time on xylose and glucose degradation of waste mushroom (OA: oxalic acid, SA: sulfuric acid, X: xylose, G: glucose).

반응속도측면에서 분석한 결과 Table 12와 같다. Xylan 분해에 있어 sulfuric acid와 oxalic acid는 각각 0.011과 0.010 min^{-1} 으로 유사한 반응속도상수를 나타냈다. 모든 촉매에서 반응 온도가 증가할수록 분해속도상수는 증가하였다. Glucan 분해에서는 sulfuric acid에서 상대적으로 높은 반응속도상수를 나타냈으며 온도가 증가할수록 증가하였다. 촉매에 따른 xylan, glucan 분해거동은 꽃송이 버섯 폐배지와 유사할 결과를 나타냈다.

하지만 xylose, glucose로부터 분해산물 생산을 이루어지지 않았다. 모든 촉매에서 160°C 반응온도에서 소량의 furfural, HMF가 검출되었기 때문에 분해속도상수(k_2)를 구하지 못하였다. 본 연구에서 수행된 가수분해 조건에서는 xylose, glucose 생산도 낮았으며 이와 관련하여 xylose, glucose의 furfural, HMF로의 분해가 진행되지 못하였다. 따라서 표고버섯 폐배지의 glucose, xylose 분해로 furfural, HMF 생산에 관여하는 분해속도상수(k_2)를 구하기 위해서는 꽃송이 버섯 폐배지에서보다 높은 반응온도, 촉매 농도, 반응시간 등이 필요하다고 사료된다.

버섯 폐배지는 버섯의 종류에 따라 물리적, 화학적 특성이 다르다. 따라서 버섯 폐배지의 이용을 위해서는 다양한 종류의 버섯 폐배지에 대한 가수분해 거동 분석이 필요하다.

Table 12. Value of k_1 for waste mushroom hydrolysis at different acid catalyst and temperature (unit: min^{-1})

Temperature (°C)	Xylan to xylose		Glucan to glucose	
	Sulfuric acid	Oxalic acid	Sulfuric acid	Oxalic acid
140	0.011	0.010	0.010	0.009
150	0.022	0.019	0.026	0.022
160	0.034	0.032	0.062	0.050

마. 바이오매스의 물리-화학적 특성 분석

표고버섯 폐배지 바이오매스 처리 전과 산 촉매 처리 후 미세구조를 확인한 결과 Fig. 11과 같다. 처리 전 바이오매스의 도관 및 목섬유 세포벽이 대부분 유지되어 있었으며 산 촉매 전처리 후에는 세포벽이 분해되어 있음을 확인할 수 있었다. 세포벽 표면이 매끄럽지 못하고 두께가 불규칙함을 확인하였다. 광학현미경 분석에 의해 산 촉매 사이의 차이를 구분할 수 없었다. SEM, TEM에 의한 정밀한 분석이 이루어져야 산 촉매에 따른 세포벽 분해 양상을 확인할 수 있을 것이다.

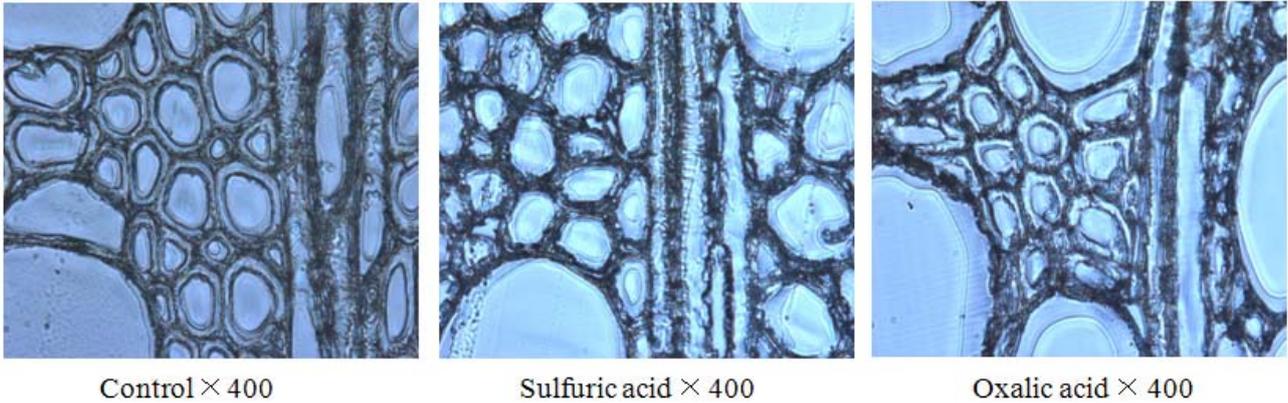


Fig. 11. Microscope image of untreated and treated biomass.

바이오매스 공극크기와 분포에 대한 분석결과는 Table 13과 같다. 처리 전 바이오매스와 비교하여 산 촉매 전처리 후 바이오매스 공극이 크게 증가함을 확인하였다. 산 촉매에 따라 sulfuric acid를 촉매로 하였을 때 상대적으로 크게 증가하였다. 공극의 분포에서도 산 촉매 사이의 차이를 나타냈다.

Table 13. Pore size and distribution of untreated and treated biomass

	oxalic acid	sulfuric acid	raw material
BET (m ² /g)	0.8224	1.3045	0.1273
증가량 (%)	546.03	924.74	

	oxalic acid	sulfuric acid	raw material
pore size (Å)	205.08	179.11	160.51
증가량 (%)	27.77	11.59	

Relative Pressure (P/Po)	oxalic acid	sulfuric acid	raw material
0.01	0.11		
0.04	0.18	0.22	0.05
0.07	0.20	0.27	0.05
0.09	0.20	0.29	0.05
0.11	0.20	0.31	0.04
0.14		0.33	
0.16		0.34	
0.19		0.35	
0.21		0.36	
0.24		0.37	

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

◆ **발효가능한 당 생산 메커니즘 구명 (80%):** 목질계바이오매스 기반 바이오에너지 생산 및 고부가가치 bio-based products 생산을 위해 농업 부산물 바이오매스 자원을 이용한 발효 가능한 당 생산 메커니즘을 반응 동력학적으로 분석

<기술개발(또는 제품)의 평가방법 및 평가항목>

평가항목 (주요성능 Spec ¹⁾)	단위	비중 (%)	세계최고 수준 (보유국/보유 기업)	연구개발전 국내수준	개발목 표치	평가방법 ³⁾
1. 산 촉매에 따른 버섯 폐배지 셀룰로오스 분해속도상수 결정	%	40	95	80	95	반응속도상수 k_1, k_2 유도
2. 산 촉매에 따른 버섯 폐배지 헤미셀룰로오스 분해속도상수 결정	%	40	90	80	95	반응속도상수 k_1, k_2 유도
3. 발효저해물질 최소화를 위한 가수분해 조건 확립	%	20	-	80	95	산 촉매 가수분해로 바이오매스로부터 발효가능한 당 90%이상 회수

◆ 본 연구에서 모델물질을 기준으로 xylan에 대한 분해거동을 분석한 후 버섯 폐배지에 대한 xylan, glucan 분해거동 분석을 완료하였다. 바이오매스 분해에 관여하는 반응속도상수 k_1, k_2 를 제시하였으며 이러한 인자를 이용하여 바이오매스로부터 90% 이상의 발효가능한 당 회수가 가능하다고 사료된다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

(단위 : 건수)

구분	특허		신제품				(예시) 유전자원 등록	논문		기타
	출원	등록	품종명 명칭등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차년도							2	1		
2차년도										
3차년도										
4차년도										
5차년도										
계							2	1		

제 2 절 성과활용 계획

목질계바이오매스(버섯 폐배지)로부터 발효가능한 당으로 전환은 바이오에너지 뿐만 아니라 bio-based products 생산에 기여할 것이다. 따라서 화석연료 대체효과 및 지구온난화를 대비할 수 있는 효과를 동시에 제공할 것이다.

산 축매에서 바이오매스 분해의 반응 동력학적 분석은 바이오매스로부터 발효가능한 당 전환에 있어 독자적인 원천기술을 확보할 수 있다. 뿐만 아니라 에너지 자원의 무한 경재 시대에 적극적으로 대처할 수 있는 역량을 확보할 것이다.

최근 생물화학 및 발효산업 분야의 대기업을 필두로, 정밀화학회사를 비롯하여, 바이오벤처기업들은 바이오리파이너리 산업에 큰 관심을 가지고 있다. 하지만 국내에서는 바이오리파이너리 분야에 범국가 차원의 지원정책은 없는 실정으로, 특히 목질계바이오매스로부터의 바이오에너지 및 bio-based products 생산은 체계적인 기술개발이나 인프라 구축, 인력양성, 산업화 지원이 이루어진 바 없는 상황이다. 이와 같은 연구는 학문 및 산업의 다양한 측면에서 그 성과를 기대할 수 있다.

바이오매스로부터 발효가능한 당 생산에 관련된 연구는 기존의 화학 산업이나 전통적인 생물 산업과 비교하여 대사공학, 효소공학 및 바이오플랫폼 기술이 함께 융합된 공정으로 다른 형태의 BT 산업의 활성화에 기여할 것으로 판단된다.

목질계바이오매스의 에너지 및 bio-based products로 전환은 다양한 형태의 전처리 공정을 거친

당화액 생산이 필수적이며, 이러한 전처리, 당화 기술의 확보는 향후 본격적인 바이오에너지 및 bio-based products 생산에 가격 경쟁력을 확보할 수 있다.

풍부한 목질계바이오매스를 이용하므로 재생 가능한 산업시스템을 형성 할 뿐만 아니라, 농업 경영인에게 새로운 비즈니스를 제공할 것이며 다양한 분야의 일자리 창출로 경제적으로 긍정적인 효과를 나타낼 것이다.

전처리 공정의 효율적인 분해 시스템은 기존의 제지 산업뿐만 아니라, 식품 및 의약 산업에도 적용 가능하며, 효소/발효 공정 모델링, 최적화 기술, 공정 설계 기술 등은 바이오에탄올 생산 공정 뿐만 아니라 바이오리파이너리(biorefinery) 기술에 광범위하게 적용 가능하여 생물 산업에 파급효과가 크다.

참고문헌

1. Sun, Y. and Cheng, J., "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production", *Bioresour.Technol.*,**83**,1-11(2002).
2. Jensen, J.E., Morinelly, K.R., Gossen, K.R., Brodeur-Campbell, M.J. and Shonnard, D.R., "Effects of dilute acid pretreatment conditions on enzymatic hydrolysis monomer and oligomer sugar yields for aspen, balsam, and switchgrass", *Bioresour.Technol.*,**101**,2317-2325(2010).
3. Soderstrom, J., Pilcher, L., Galbe, M. and Zacchi, G., "Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production", *BiomassBioenergy*,**24**,475-486(2003).
4. Wingre, A., Galbe, M. and Zacchi, G., "Energy consideration for a SSF-based softwood ethanol plant", *Bioresour.Technol.*,**99**,222-231(2008).
5. Kenealy, W., Horn, E. and Houtman, C., "Vapor-phase diethyl oxalate pretreatment of wood chips", *Holzforschung*,**61**,223-229(2007).
6. Kootstra, A.M.J., Mosier, N.S., Scott, E.L. and Beeftink, H.H., "Differential effects of mineral and organic acids on the kinetics of arabinose degradation under lignocellulose pretreatment conditions", *Biochem.Eng.J.*,**43**,92-97(2009).
7. Lee, J.W. and Jeffries, T.W., "Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity factors", *Bioresour.Technol.*,**102**,5884-5890(2011).
8. Carrasco, F. and Roy, C., "Kinetic study of dilute-acid-pre-hydrolysis of xylan containing biomass", *WoodSci.Technol.***26**,189-208(1992).
9. Tellez-Luis, S.J., Ramirez, J.A. and Vazquez, M., "Mathematical modelling of hemicellulose sugar production from sorghum straw", *J.FoodEng.*,**52**,285-291(2002).
10. Rahman, S.H.A., Choudhury, J.P. and Ahmad, A.L., "Production of xylose from oil palm empty fruit bunch fiber using sulfuric acid", *Biochem.Eng.J.*,**30**,97-103(2006).
11. Rafiqul, I.S.M. and Mimi Sakinah, A.M., "Kinetic studies on acid hydrolysis of

Merantiwoodsawdustforxyloseproduction”, *Chem.Eng.Science*,**71**,431-437(2012).

12. Mosier, N.S., Sarikaya, A., Ladisch, C.M. and Ladisch, M.R., “Characterization of dicarboxylic acids for cellulose hydrolysis”, *Biotechnol.Progress*,**17**,474-480(2001).
13. Liu, X., Lu, M., Ai, N., Yu, F. and Ji, J. “Kinetic model analysis of dilute sulfuric acid-catalyzed hemicelluloses hydrolysis in sweet sorghum bagasse for xylose production”, *Ind.CropsProducts*,**38**,81-86(2012).
14. Shu, C.Y., Alan, B. and David, R.S., “Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass”, *Bioresour.Technol.***99**,3855-3863(2008).

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 생물산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 생물산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.