

거대역새 탈리그닌 처리에 있어서 무기물이 리그닌 분석에 미치는 영향

권구중 · 황교정 · 양지욱 · 황재현¹ · 김대영[†]

접수일(2016년 8월 1일), 수정일(2016년 8월 12일), 채택일(2016년 8월 14일)

Influence of Inorganic Compounds on the Analysis of Lignin of *Miscanthus Sinensis* in Delignification Treatment

Gu-Joong Kwon, Kyo-Jung Hwang, Ji-Wook Yang, Jae-Hyun Hwang¹ and Dae-Young Kim[†]

Received August 1, 2016; Received in revised form August 12, 2016; Accepted August 14, 2016

ABSTRACT

This study was carried out to the influence of inorganic compounds on the analysis of lignin when it comes to delignification by using *Miscanthus sinensis* which planted on the reclaimed land. Peracetic acid was conducted by using acetic acid and hydrogen peroxide for delignification. For washing raw material before any chemical treatment, we compared a general washing method with a washing method using the screen. In the case of the non-washing sample, there was no clear distinction between the content of the component parts. However, it showed that a quantity of inorganic compound in *M. sinensis* is affecting by analyzing the content of lignin and inorganic compound with various conditions. So it is considered to be effective to treat *M. sinensis* with delignification and distilled water with screen washing to get the pure cellulose and use it as bio-materials.

Keywords: *Miscanthus sinensis*, lignin, washing, inorganic compound

• 동국대학교 바이오환경과학과(Dept. of Biological and Environmental Science, Dongguk University, Seoul, 130-715, Republic of Korea)

¹ 동국대학교 식품산업관리학과(Dept. of Food Industrial Management, Dongguk University, Seoul, 130-715, Republic of Korea)

[†] 교신저자(Corresponding Author): E-mail: sbpkim@dongguk.edu

1. 서론

19세기 산업혁명 이후 급변하는 물질문명 속에서 과도한 화석연료사용으로 여러 환경 문제가 야기되었다. 또한 한정된 자원의 고갈로 화석연료를 대체할 수 있는 천연에너지 자원에 대한 관심이 지속적으로 높아지고 있다. 이에 전세계는 바이오매스를 이용한 바이오에너지 사업에 지속적인 관심을 가지게 되었다.

국토면적이 넓은 미국은 자국의 우위농산물인 옥수수, 사탕수수 원료로 바이오에탄올의 대량생산 체계를 갖추고 있으며, 전세계 바이오에탄올 공급량의 80% 이상을 생산하고 있다.¹⁾ 그러나 다른 나라들에서 농업작물의 에너지화는 크게 두 가지 문제점을 가지고 있는데, 첫 번째는 기아문제도 해결이 되지 않은 상태에서 식량을 에너지화시키는 문제점과 두 번째는 국제곡물 가격을 상승시키는 요인이 되는 것이다. 이러한 문제를 해결하기 위해 비식용 에너지작물 연구개발이 전세계적으로 활발히 진행되고 있다. 비식용 원료로는 유기성 폐기물(음식물 쓰레기), 목질계 원료, 비목질계 작물(식량자원으로 쓰지 못하는 일년생 또는 다년생 초본), 해양 바이오매스(미세, 거대조류) 등이 있다.

국내에서는 차세대 바이오매스로 역새에 관하여 많은 관심을 가지게 되었다. 비식용 작물인 역새는 질소이용 효율이 매우 높고, 양분저장기관이 지하경이기 때문에 질소 무비재배가 가능한 식물 중에 하나이다.²⁾ 또한 역새의 수확기간은 늦은 가을에서 이른 봄까지 수확 가능한 기간이 길어 이용율이 높고, 다른 식물에 비해 수분함량이 15% 정도 적어 건조비용을 절감할 수 있으며,³⁾ 국내의 토종작물이기 때문에 생태계 교란 우려가 적다. 그러나 이러한 역새도 지상부 양분 이행가능 기간이 짧아 양분이 지하경에 적게 저장되므로 월동율이 낮고,⁴⁾ 낮은 중량비 때문에 바이오매스 확보의 어려움 가지고 있다.⁵⁾

이에 국내의 농촌진흥청에서는 비식용 바이오매스 자원의 부족한 문제를 해결하기 위해 새로운 거대역새 품종을 개발하였다.⁶⁾ 개발된 거대역새는 초장이 4 m 정도, 줄기의 직경은 9.6 cm 정도로 일반 역새의 2배나 되는 건조량을 가지고 있어 국내의 차세대 바이오매스 작물로 주목을 받고 있다. 그러나 비목질원료인 역새의 무기물은 목질계 바이오매스 자원보다 10-20배 정도 많이 함유하고 있어 바이오에너지나 바이오신소재 등의 환경 친화적

인 바이오기반 산업에 있어서 생산 효율을 저해시키는 문제점이 되고 있다. 바이오신소재로서 활용하기 위해서는 순수 셀룰로오스만 필요하기 때문에 무기물은 필요가 없다. 또한, 바이오매스 자원에 대한 선행연구를 살펴보면 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등의 무기성분은 급속열분해 공정에서 탄화 및 가스화 반응을 촉진시켜 바이오 오일의 수율을 감소시킨다고 알려져 있다.⁷⁾

본 연구는 간척지에서 생육한 거대역새를 바이오에너지 및 소재로서 활용하기 위해 탈리그닌 처리과정에서 무기물이 리그닌 분석에 미치는 영향을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시재료

본 연구는 전북대학교에서 분양받은 거대역새(*Miscanthus sinensis* var. *purpurascens*)로, 전북 익산시 용안면 금강용안지역 용머리권역 내 거대역새 시범단지에서 수집한 것을 30-60 mesh 분말로 분쇄한 것을 이용하였다.

2.2 실험방법

본 연구에서는 Fig.1에 보여준 순서에 의해 실험을 진행하였다. 거대역새에 존재하는 무기물을 제거하기 위해 스크린 사용유무에 따른 수세법에 따른 리그닌과 무기물 함량을 비교 검토한다. 그 후 화학적 처리에 따른 리그닌과 무기물의 함량을 비교 검토하여 최적의 조건을 검토한다. 최종적으로 가장 효율적인 방법으로 수세, 과초산에 의한 탈리그닌 처리, 무기물 제거 순으로 진행하여 리그닌과 무기물 함량을 비교 분석한다.

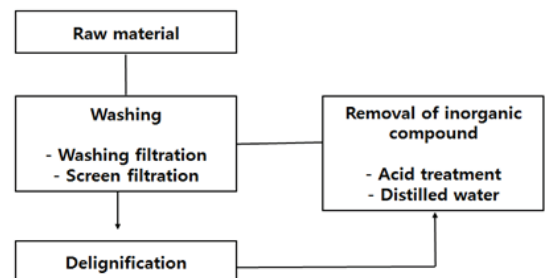


Fig. 1. Flowchart of the experiment process.

2.2.1 원료에 대한 수세

2.2.1.1 수세 여과

원료를 증류수로 1,000 rpm 속도로 20분간 교반 후 여과지를 이용하여 감압 여과하였다. 이 과정을 1회로 하였으며, 5회 반복 실시하였다.

2.2.1.2 Screen 및 수세 여과

원료를 증류수로 1,000 rpm 속도로 20분간 교반 후 스크린(120 mesh)을 사용하여 거른 뒤 여과지를 이용하여 감압 여과하였다. 이 과정을 1회로 하였고, 5회 반복 실시하였다.

2.2.2 화학적 처리

2.2.2.1 과초산법

원료의 구성 성분 중 리그닌을 제거하기 위하여 시료를 과산화수소와 아세트산을 1:1 (v/v) 비율로 제조한 용액에 $80 \pm 1^\circ\text{C}$ 조건에서 6, 9, 12시간 동안 오일배스에서 중탕하였다. 그 후 중화될 때까지 수세하고 동결건조 하였다.

2.2.2.2 산처리법

시료 내에 무기물만을 제거하기 위한 방법으로 9시간 과초산법에 의해 탈리그닌 처리한 시료를 상온에서 1 M HCl을 이용하여 4시간 동안 실시하였고 그 후 중화시켜 동결 건조하였다.

2.2.2.3 증류수법

시료 안에 있는 무기물을 제거하기 위하여 Kim^등이 이용한 방법으로 실시하였다. 9시간 과초산법에 의해 탈리그닌 처리한 시료를 증류수(1:10 w/w)와 함께 $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 조건에서 2시간 동안 교반하였다. 교반 후, 각 시료는 동결건조를 통해 수분을 제거하였다.

2.2.3 성분 분석

2.2.3.1 리그닌 및 당 분석

거대역새에 대한 주요 단당류 성분(아라비노스, 갈락토스, 글루코스, 자이로스, 만노스) 분석을 위하여 액체 크로마토그래피 분석법을 실시하였다. 리그닌 정량 과정에서 제조한 황산 가수분해액을 사용하였으며 증류수를 첨

가해 60배 희석한 후 내부표준법에 의거하여 주요 단당류를 정량하였다(TAPPI T 222 om-02). 분석기기로는 Dionex CarboPac PA1 (4×250 mm) 음이온 교환 column이 장착된 HPAEC(ICS-3000, Dionex, USA)를 이용하였으며, pulsed amperometric detection(PAD)로 검출하였다.

2.2.3.2 무기물 함량 분석

시료 0.2 g을 550°C 에서 6시간 회화를 시킨 뒤(F6010, Barnstead Thermolyne, USA), 상온까지 냉각시킨 후 칭량하여 무기물 함량을 측정하였다.

2.2.3.3 무기물 성분분석

거대역새 내에 존재하는 무기성분에 대한 존재를 확인하기 위해 SEM/EDS(scanning electron microscope/energy dispersive X-ray spectrometry)를 활용하였다. 시료를 이온코팅기(KIC-1A, COXEM, Korea)로 5 mA에서 Au를 코팅한 후 주사전자현미경(EM-30, COXEM, Korea)을 통해 이미지를 전송하였다. 가속 전압 조건은 30 kV로 실시하였으며 SEM 이미지의 배율은 1,000배로 설정하였다. 이후 EDS(X flash detector 410-M, Bruker, Germany)를 이용하여 무기물을 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 원료의 과초산법 처리에 따른 당분석 및 리그닌 함량분석

Table 1은 수세하지 않은 시료를 과초산법에 의한 탈리그닌 처리시간을 달리하여 Klason 리그닌 여액으로 당분석한 결과를 나타낸 것이다. 과초산 처리시간이 증가할수록 구성당 성분은 감소하는 것으로 나타났다. 12시간 처리한 경우, 글루코스의 함량이 급격하게 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 과초산의 장시간 처리에 의해 셀룰로오스 가수분해가 일어난 것으로 생각된다.

Table 2는 수세하지 않은 원료를 이용하여 과초산 처리시간에 따른 홀로셀룰로오스, 리그닌, 무기물 함량을 나타낸 결과이다. 홀로셀룰로오스는 과초산 처리시간이 증가할수록 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 리그닌은 과

초산 처리시간에 따른 함량이 감소되었지만, 12시간 처리에서는 증가하였다. 이것은 홀로셀룰로오스의 함량감소에 따라 상대적으로 높게 나타난 것으로 생각된다. 무기물 함량은 과초산 처리시간이 증가할수록 증가하는 것으로 나타났다.

본 연구결과에서 무기물 함량이 높은 것은 간척지에서 생육한 거대역새 표피에 있는 무기물들을 효율적으로 세척하지 않은 상태에서 분쇄과정에서 미세화되어 원료와 같이 다량으로 혼합된 것으로 사료된다. 또한 Brosse 등⁹⁾에 의하면 거대역새의 생육환경이 갯벌이라는 특이적 환경때문에 무기물 성분이 많다고 보고하고 있어 과초산 처리시간에 증가할수록 증가한 것은 과초산 처리에 의한 펄

프화공정에서 무기물이 과초산에 의한 영향을 받지 않아 섬유소내에 상대적으로 다량 존재하는 것으로 생각된다.

3.2 수세 방법에 따른 무기물 함량 비교

Fig. 2는 수세만 실시한 방법과 스크린을 이용하여 수세한 방법에 따른 무기물 함량 측정 결과를 나타낸 것이다. 수세를 하지 않은 시료는 무기물의 함량이 $20.72 \pm 0.09\%$ 로 나타났다. 수세 방법에 따른 무기물 함량은 두 조건에서 3회 반복 수세 이후부터 무기물의 함량변화가 적게 나타났다. 수세방법에 따라서는 스크린을 이용한 방법이 수세만 실시한 방법에 비해 무기물 제거효율이 좋은 것으로 나타났다. 스크린을 이용하여 5회

Table 1. Sugar analysis of the sample delignified by peracetic acid

Time of delignification (hr)	Monomeric sugar (mg/g)						Total sugars (%)
	Ara (%)	Rham (%)	Gal (%)	Glu (%)	Xyl (%)	Man (%)	
0	1.70	ND	0.90	35.30	19.20	0.20	57.40
6	0.77	ND	0.24	21.36	9.60	0.10	32.07
9	0.50	ND	0.17	21.34	7.39	0.08	29.48
12	0.20	ND	0.06	10.80	3.42	0.04	14.52

Ara: Arabinose, Rham: Rhamnose, Gal: Galactose, Glu: Glucose, Xyl: Xylose, Man: Mannose, ND: Not detectable.

Table 2. Chemical composition of delignified sample

Time of delignification (hr)	Holocellulose (%)	Lignin (%)	Inorganic compound (%)
0	60.26 ± 1.56	18.95 ± 0.09	20.72 ± 0.47
6	73.58 ± 1.56	8.42 ± 1.40	18.06 ± 0.80
9	71.67 ± 1.68	6.33 ± 1.25	22.87 ± 1.12
12	64.84 ± 1.99	10.16 ± 2.47	25.58 ± 0.34

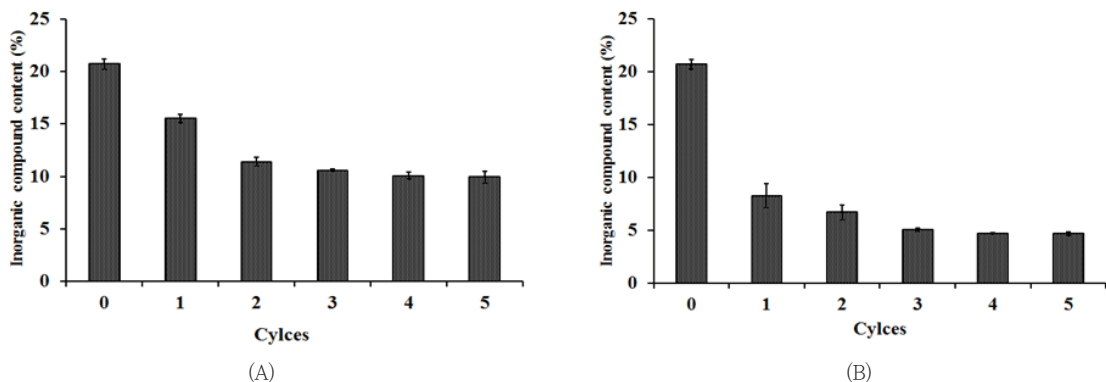


Fig. 2. Content of inorganic compound according to the number of washing (A) and screen filtration (B).

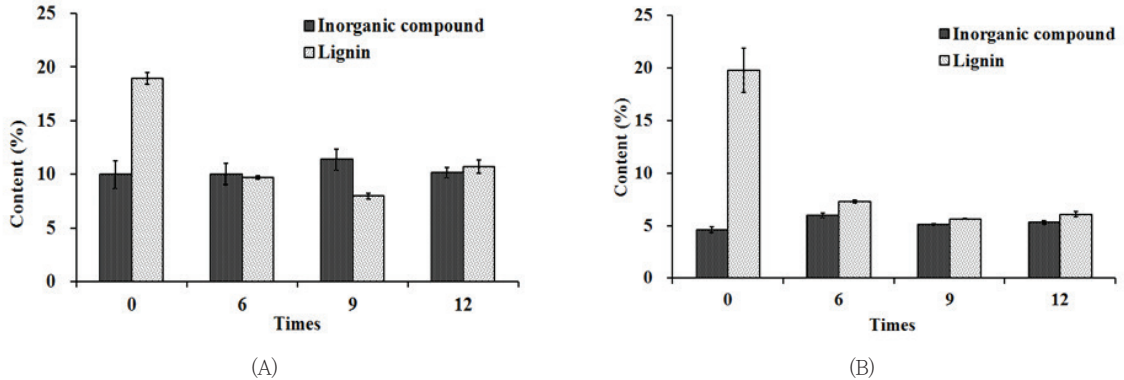


Fig. 3. Content of inorganic compound and lignin of the sample after 5 cycles of washing (A) and screen filtration (B).

수세한 조건에서 무기물 함량은 $4.67 \pm 0.16\%$ 로 나타났다. 이 결과는 Kim 등⁸⁾이 발표한 연구 결과에서 대조 실험으로 사용한 거대역세의 무기물 함량과 유사한 결과를 보여주었다.

3.3 과초산처리 후 수세 조건에 따른 리그닌과 무기물 함량 비교

Fig. 3은 수세 조건을 달리하여 5회 반복 수세 후 과초산 처리시간에 따른 리그닌과 무기물 함량의 측정된 결과를 나타낸 것이다. 스크린을 이용하여 수세한 조건이 스크린을 이용하지 않은 것보다 탈리그닌 효과가 향상된 것으로 나타났다. 그러나 과초산 처리시간에 따라 리그닌 함량 변화에 대한 뚜렷한 경향성이 없는 것으로 나타났다. Kamsta 등¹⁰⁾은 벗짚이 과초산 처리에 의해 리그닌 함량이 감소하는 않은 이유는 벗짚에 존재하는 다량의 실리카(15-20%)가 화학적 접근성을 방해하고 있기 때문이라고 설명하고 있다. 따라서 이러한 이유로 과초산 처리시간에 따른 리그닌 제거효과가 감소하는 것으로 생각된다. 이러한 복합적인 상호작용에 의해 과초산법에 의한 탈리그닌 처리적정시간은 9시간인 것으로 판단된다.

3.4 산처리법, 증류수법에 따른 리그닌 및 무기물 함량 비교

Fig. 4는 수세 조건 중 무기물 제거 효율이 가장 좋은 조건인 스크린으로 5회 수세하여 9시간 과초산 처리 후 산처리법과 증류수법을 실시한 시료에 대한 리그닌과 무기물 함량을 비교 검토한 결과를 나타낸 것이다. 대조군 (Fig. 4, 5CW)은 스크린을 이용하여 5회에 걸쳐 수세한

한 것으로 리그닌이 $22.2 \pm 0.21\%$, 무기물이 $5.1 \pm 0.09\%$ 였다. 산처리법(Fig. 4, AT)은 리그닌이 $20.2 \pm 0.01\%$, 무기물이 $4.6 \pm 0.29\%$ 로 대조군에 비해 리그닌과 무기물함량이 다소 감소하는 것으로 나타났다. 증류수법은 Kim 등⁸⁾이 거대역세 내에 있는 무기물을 제거하기 위해 이용한 방법으로 리그닌 함량의 변화는 없었고, 무기물의 함량이 $4.27 \pm 0.06\%$ 로 본 실험에서 가장 낮은 값을 보여주어, 산처리법이 보다 무기물 제거에 효율적인 방법으로 판단된다.

3.5 최적화 조건에 의한 리그닌과 무기물 함량 비교

수세조건과 무기물제거에 가장 효과적인 조건을 이용

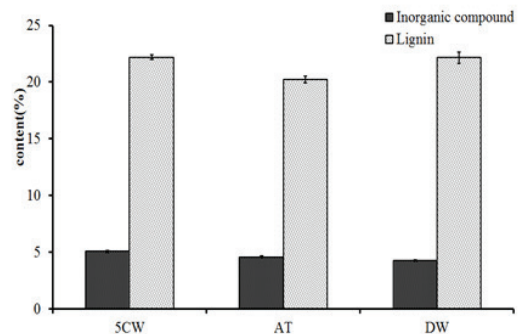


Fig. 4. Compare of inorganic compound and lignin content according to each treatment method after 5 cycles screen filtration. 5CW: 5 cycles screen & washing filtration, AT: Acid treatment, DW: Distilled water.

한 방법을 통해 리그닌과 무기물의 함량을 검토한 결과를 Fig. 5에 나타냈다. 본 연구에서 거대역새의 무기물제거를 위한 수세조건은 스크린으로 5회 실시한 것이 가장 좋았으며, 화학적 처리로는 증류수로 90℃의 조건에서 처리하는 것이 효과적인 것으로 나타났다. 과초산 처리하지 않은 원료(Fig. 5, Raw material)에 대한 리그닌함량은 $18.95 \pm 0.47\%$, 무기물 함량은 $20.72 \pm 0.09\%$ 였다. 그러나 screen을 이용하여 수세 후 9시간 동안 과초산 처리한 시료(Fig. 5, 9 hours of peracetic acid)의 리그닌함량은 $5.63 \pm 0.04\%$, 무기물 함량은 $5.12 \pm 0.07\%$ 로 나타나 수세와 과초산 처리에 의해 리그닌과 무기물함량이 많이 감소되었음을 알 수 있다.

가장 최적화된 조건으로 실시한 시료(Fig. 5, Peracetic acid & distilled water)의 리그닌 함량은 $5.11 \pm 0.05\%$, 무기물 함량은 $3.85 \pm 0.03\%$ 로 본 연구에서 가장 낮은 값을 보여주었다.

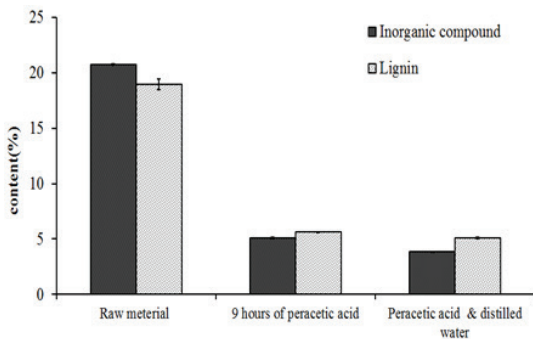


Fig. 5. Compare of inorganic compound and lignin according to optical condition after 9 hours delignification.

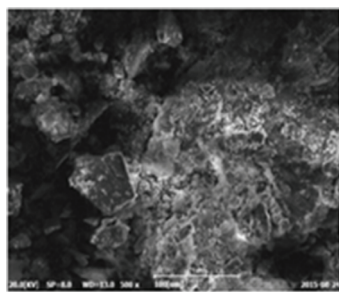
3.6 무기물 분포 분석

Fig. 6은 스크린으로 5회 수세한 것을 과초산법으로 9시간 동안 처리한 시료를 이용하여 SEM/EDS로 거대역새 내에 존재하는 무기물의 분포를 분석한 것이다. SEM 이미지로 관찰한 부분(Fig. 6A)에 대해 EDS spectrum-eter 분석을 하였다. 그 결과, 탄소(C)과 산소(O), 실리콘(Si), 알루미늄(Al), 게르마늄(Ge), 나트륨(Na) 성분이 검출되었다. 검출된 탄소와 산소 성분은 거대역새를 구성하고 있는 성분들이다. 무기성분 중 가장 높은 함량을 나타낸 것은 Si이다. Woli 등¹⁰⁾은 미국 동부지역에서 생육한 여러 역새종들의 Si 농도에 대한 연구에서 작물의 Si 변이는 생육위치의 강수량과 온도와 관계가 있지만, 토양형과 식물 Si 농도 사이에는 어떠한 관계가 없다고 언급하고 있어 역새의 생육위치가 Si 함량에 크게 영향을 끼치고 있는 것으로 생각된다.

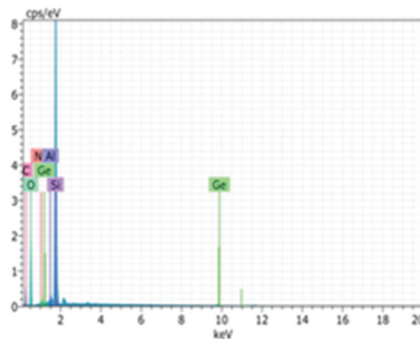
4. 결론

본 연구는 간척지에서 생육한 거대역새의 바이오에너지 및 소재화를 위한 탈리그닌 처리에 있어 무기물이 리그닌 함량 분석에 미치는 영향을 검토하고 무기물을 최소화하는 방안을 모색하였다.

수세없이 과초산 전처리를 적용하여 리그닌과 무기물 함량을 비교 분석한 결과, 다량의 무기물에 의하여 처리시간이 증가하여도 리그닌 제거효과는 크지 않았다. 이것은 무기물이 과초산의 화학적 접근성을 방해하고 있기 때문이다.



(A)



(B)

Fig. 6. SEM images (A) and EDS spectrum/data (B) of screen filtration sample with 9 hours delignification.

수세를 실시하고, 과초리 처리 후 산처리와 증류수를 이용한 방법으로 무기물 제거 최적화 조건을 검토한 결과, 탈리그닌 처리 전에는 스크린을 이용하여 5회 실시한 것이 무기물을 제거하는 것에 효율적이었고, 탈리그닌 처리 후에는 증류수를 90℃에서 2시간 동안 가열처리한 조건이 무기물 최소화에 가장 효율적이며 최적의 조건으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임.(NRF-2016R1A2B4014579)

Literature Cited

1. Chris, S., Heather, Y., Caroline, T., Sarah, C. D., and Stephen, P. L., Feedstocks for lignocellulosic biofuels, *Science* 329:790-792 (2010).
2. Moon, Y. H., Koo, B. C., Choi, Y. H., Ahn, S. H., Bark, S. T., Cha, Y. L., An, G. H., Kim, J. K., and Suh, S. J., Development of "Miscanthus" the promising bioenergy crop, *Kororran Journal of Weed Science* 30(4):330-339 (2010).
3. Miguez, F. E., Villamil, M. B., Long, S. P., and Bollero, G. A., Meta-analysis of the effects of management factors on *Miscanthus* × *giganteus* growth and biomass production, *Agricultural and Forest Meteorology* 148(8):1280-1292 (2008).
4. Farrell, A. D., Clifton-Brown, J. C., Lewandowski, I., and Jones, M. B., Genotypic variation in cold tolerance influences the yield of *Miscanthus*, *Annals of Applied Biology* 149(3):337-345 (2006).
5. Heo, H. S., Park, H. J., Yim, J. H., Sohn, J. M., Park, J., Kim, S. S., Ryu, C., Jeon, J. K., and Park, Y. K., Influence of operation variables on fast pyrolysis of *Miscanthus sinensis* var. *purpurascens*, *Bioresource Technology* 101(10):3672-3677 (2010).
6. Kim, W. K., Shim, T., Kim, Y. S., Hyun, S., Ryu, C., Park, Y. K., and Jung, J., Characterization of cadmium removal from aqueous solution by biochar produced from a giant *Miscanthus* at different pyrolytic temperatures, *Bioresource Technology* 138:266-270 (2013).
7. Eom, I. Y., Kim, K. H., Kim, J. Y., Lee, S. M., Yeo, H. M., Choi, I. G., and Choi, J. W., Characterization of primary thermal degradation features of lignocellulosic biomass after removal of inorganic metals by diverse solvents, *Bioresource Technology* 102(3):3437-3444 (2011).
8. Kim, J. Y., Oh, S. Y., Hwang, H. W., Moon, Y. H., and Choi, J. W., Evaluation of primary thermal degradation feature of *M. sacchariflorus* after removing inorganic compounds using distilled water, *Journal of the Korean Wood Science and Technology* 41(4):276-286 (2013).
9. Brosse, N., Dufour, A., Meng, X., Sun, Q., and Ragauskas, A., *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 6(5):580-598 (2012).
10. Kamstra, L. D., Ronning, D., Walker, H. G., Kohler, G. O., and Wayman, O., Delignification of fibrous wastes by peroxyacetic acid treatments, *Journal of Animal Science* 50(1):153-159 (1980).
11. Woli, K. P., David, M. B., Tsai, J., Voigt, T. B., Darmody, R. G., and Mitchell, C. A., Evaluating silicon concentrations in biofuel feedstock crops *Miscanthus* and switchgrass, *Biomass and Bioenergy* 35(7):2807-2813 (2011).