pISSN 2508-2809
eISSN 2765-5768

Trends Agric. Life Sci. 2024;62:45-54
https://doi.org/10.29335/tals.2024.62.45

ARTICLE

연속 전처리에 의한 바이오매스의 특성 및 효소가수분해 효율 분석

신윤정[1,2] · 이재원[1,2,3,*]

[1]전남대학교 임산 · 조경학과, [2]전남대학교 IT-Bio 융합시스템전공, [3]전남대학교 임산공학과

Analysis of Biomass Characteristics and Enzymatic Hydrolysis Efficiency by Continuous Pretreatment

Yoon-Jung Shin[1,2], Jae-Won Lee[1,2,3,*]

[1]Department of Wood Science and Landscape Architecture, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju, Korea
[2]Interdisciplinary Program in IT-Bio Convergence System, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea
[3]Department of Wood Science and Engineering, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju, Korea

Received: November 20, 2024
Accepted: December 5, 2024

*Corresponding author :
Jaewon Lee
College of Agriculture and Life Sciences, Divison of Forest Resources and Landscape Architecture, Chonnam National University, Gwangju, Korea
Tel : +82-62-530-2098
E-mail : ljw43376@chonnam.ac.kr

Copyright © 2024 Institute of Agricultural Science & Technology, Chonnam National University. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID
Yoon-Jung Shin
https://orcid.org/0000-0001-6299-5128
Jae-Won Lee
https://orcid.org/0000-0003-2528-1905

Abstract

In this study, biomass was pretreated by combining ball milling, homogenization, and hydrothermal pretreatments, and the efficiency of enzymatic hydrolysis was evaluated. After ball milling and homogenization pretreatments, no significant changes were observed in the chemical composition, and the crystallinity of the biomass decreased. However, the hemicellulose content decreased and the crystallinity increased after hydrothermal pretreatment. In particular, the hemicellulose decomposition of forest by-products was promoted during continuous pretreatments such as ball milling and hydrothermal pretreatment consequently, the xylan content in the pretreated biomass was 5.80%. However, the effect of single or continuous pretreatment on rice husk (RH) was insignificant in relation to that on the forest by-products. The structural changes in the pretreated biomass were investigated using Fourier transform infrared spectra, which revealed that the intensities of the hemicellulose-related peaks (1,745 and 1,245 cm^{-1}) obtained from the biomass pretreated via ball milling and hydrothermal pretreatments decreased. During enzymatic hydrolysis, the conversion rate of cellulose to glucose in the forest by-products pretreated via ball milling and hydrothermal pretreatments was the highest (84.49%). By contrast, this conversion rate in RH was low (22.72%), under the same conditions.

Keywords

biomass, hydrothermal pretreatment, ball-milling pretreatment, homogenization pretreatment, enzymatic hydrolysis

서 론

화석연료의 과도한 사용으로 인한 기후변화로 재생에너지 자원에 대한 관심이 증가하고 있다[1]. 에너지 수요는 산업화 및 기술개발로 가속화되고 있으며, 이에 대한 대응 전략으로 자발적인 글로벌 캠페인 RE100(Renewable Electricity 100) 프로젝트를 시작하였다. 이것은 기업이 2050년까지 전기에너지의 100%를 친환경 재생에너지로 사용하는 것을 목표로 하는 것이다[2]. 재생에너지로는 바이오에너지, 태양광, 풍력, 수력 등이 있으며, 특히, 바이오매스를 자원으로 활용하는 연구가 관심을 받고 있다. 바이오매스를 에너지원으로 사용하면 지속 가능하고 환경문제와 화석연료 고갈 문제를 해결할 수 있다.

바이오매스는 식물이나 동물 등의 생물체에서 유래한 모든 유기물을 포함한다. 특히, 버려지는 유기성 부산물 및 폐기물은 에너지로 전환하는데 경제적인 측면에서 장점이 있다. 산림에서 목재 수확 후 얻어지는 부산물로는 벌채부산물, 가지, 톱밥, 수피 등이 있으며, 이러한 부산물에는 많은 탄수화물을 포함하고 있어 바이오에너지 생산을 위한 잠재력 있는 원료이다[3]. 지금까지 산림부산물은 분쇄하여 주로 연료, 퇴비, 깔개 등의 용도로 사용되었다. 쌀 생산 과정에서 발생하는 왕겨는 대표적인 농업부산물이다. 전세계적으로 쌀은 밀 다음으로 생산량이 많은 식량 작물로, 수확한 쌀 1톤에서 약 0.20-0.33톤의 왕겨를 얻는다[4]. 하지만 이러한 부산물은 미이용계 바이오매스로 구분되어 고부가가치로 활용되지 못하고 있어 다양한 바이오매스 변환 방법을 적용한 고부가가치 산물 생산이 필요하다.

바이오매스는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌으로 구성된 단단한 세포벽 구조를 이루고 있으며, 셀룰로오스는 헤미셀룰로오스와 리그닌에 둘러싸여 있는 난분해성 물질이다. 따라서 바이오매스의 셀룰로오스로부터 고부가가치 산물을 생산하기 위해서는 적절한 전처리가 요구된다. 특히, 셀룰로오스를 구성하고 있는 글루코오스는 화학물질, 에너지, 신소재 생산 등에 다양하게 활용될 수 있어, 바이오매스로부터 효율적인 글루코오스 생산이 필요하다. 전처리의 목적은 바이오매스의 구성성분을 선택하여 제거하거나 결정성 영역을 파괴하여 셀룰로오스에 효소의 접근성 증가시켜 효소가수분해 효율을 향상시키는 것이다[5]. 전처리의 종류는 물리적, 화학적, 생물학적 방법 등 다양하다. 최근에는 전처리 및 효소가수분해 효율을 향상시키기 위해 단일 전처리보다 이종의 방법을 연속적으로 수행하는 전처리가 소개되고 있으며, 특히, 전처리의 조합으로 물리적 방법과 수열처리를 연속적으로 수행하는 방법이 효과적인 것으로 알려졌다[6]. 이러한 연속 전처리 방법에서 물리적 방법은 바이오매스 구조를 느슨하게 하고, 이후 수행되는 수열처리에서 리그닌 및 헤미셀룰로오스의 분해가 촉진되어 최종적으로 효소가수분해 효율을 향상시킨다. 물리적 방법 중 볼밀 전처리는 입자 크기와 셀룰로오스 결정성을 효과적으로 감소시켜 바이오매스의 단단한 구조를 파괴한다[7]. 균질화 전처리에는 고속 균질화(85,120×g-340,480×g)와 고압 균질화(20-120 MPa)가 있으며, 바이오매스 내에서 액체의 전단 응력 및 마찰, 캐비테이션을 발생시킨다[8]. 균질화 전처리의 특징은 바이오매스의 입자 크기 감소 및 비표면적 증가이다. 반응 압력 및 속도, 바이오매스와 액상의 비율 조절에 의해 전처리 효율을 향상시킬 수 있다. 수열처리는 화학 촉매 대신 H_2O를 촉매로 사용하는 방법으로 친환경적이며, 이 과정에서 주로 헤미셀룰로오스가 분해된다. 하지만 다른 전처리 방법과 비교하여 전처리 및 효소가수분해 효율이 상대적으로 낮아 단일 전처리 방법으로 한계가 있다.

따라서, 본 연구에서는 산림부산물과 농업부산물에 대해 물리적 전처리(균질화, 볼밀)와 수열처리를 연속해서 수행하여 전처리 및 효소가수분해 효율을 비교 분석하였다(Fig. 1). 또한, 전처리 바이오매스 특성을 분석하여 효소가수분해에 영향을 미치는 인자를 탐색하였으며, 이러한 연구결과는 바이오매스의 고부가가치 활용을 위한 기초자료로 제공될 것이다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에서는 산림부산물로 벌채부산물(forest by-products, FP)과 농업부산물로 왕겨(rice husk, RH)를 공시재료로 사용하였다. 산림부산물은 한국화학연구원에서 제공받았으며, 왕겨는 경북 영주시 남부정미소에서 구매하였다. 바이오매스는 knife milling machine(SMX-M41KP, Shinil, Korea)을 사용하여 20-80 mesh로 분쇄하여 사용하였다.

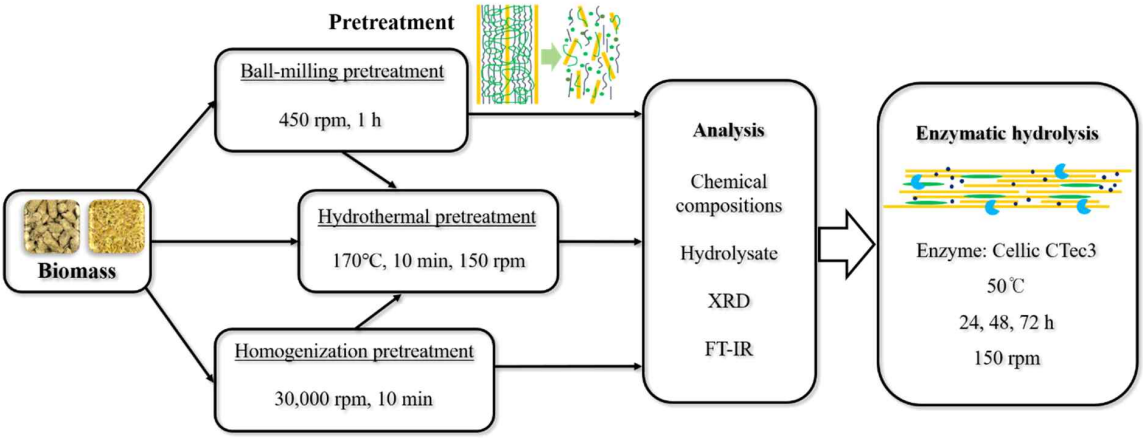

Fig. 1. Schematic diagram of enzymatic hydrolysis of biomass by continuous pretreatment. XRD, X-ray diffractometer; FT-IR, Fourier-transform infrared spectrometer.

2. 바이오매스 전처리

볼밀 전처리는 planetary mill(PM 100, Retsch, Germany)를 사용하였고, 바이오매스 25 g과 ZrO_2 ball(ϕ=10 mm, 152개)을 반응기에 넣고 2,268×g으로 분쇄하였다. 볼밀 시간은 1시간으로 10분 milling, 10분 break time을 반복하여 수행하였다.

균질화 전처리는 고속 균질화기(T10 basic, IKA Works, Germany)를 사용하여 기계적으로 처리하였다. 바이오매스 10 g과 증류수 100 mL를 혼합하여, 전압은 230 V, 전력은 125 W 조건에서 전처리를 수행하였다. 균질화 속도는 13,619×g으로 시작하여 191,520×g까지 순차적으로 증가시켜 최종 속도에서 10분 동안 반응하였다.

수열처리는 바이오매스 전건기준 20 g과 증류수 200 mL를 반응기에 투입하여 고온·고압 반응기(EMW-HT/HP600-3, EMS, Korea)에서 수행하였다. 반응온도, 시간, 교반 속도는 각각 170℃, 10분, 252×g이었으며, 반응 후, 반응기를 냉각하고 고형과 액상으로 분리하여 실험 및 분석에 사용하였다.

3. 바이오매스의 특성분석

바이오매스의 화학성분 분석은 NREL(National Renewable Energy Laboratory) 방법에 따라 수행하였다[9]. 당 함량은 Aminex HPX-87P column(300×7.8 mm, Bio-Rad, USA)과 Refractive index(RI) detector(Waters 2414, Waters, USA)가 포함된 High-performance liquid chromatography(HPLC; Alliance e2695, Waters)로 분석하였다. 회분은 TAPPI Standard method(T211-om-02)을 변형하여 800℃로 6시간 연소시켜 측정하였다. 전처리 액상가수분해 산물 분석은 HPLC로 수행하였으며, Aminex HPX-87H column(300×7.8 mm, Bio-Rad, USA)과 RI detector를 사용하였다. 이동상은 5 mM H_2SO_4, 유속은 0.6 mL/min으로 55분 동안 분석하였다. 바이오매스의 결정화도는 X-ray diffractometer(XRD; Malvern Panalytical, Netherlands)로 분석하였으며, 분석 범위는 2θ=5°-50°, 간격은 0.026°로 수행하였다. 결정화도는 식 (1)에 의해 계산하였다. 바이오매스 구조는 Fourier-transform infrared spectrometer(FT-IR; Spectrum 3, PerkinElmer, USA)를 사용하여 분석하였다. 분석 범위는 600-4,000 cm^{-1}, 해상도는 4 cm^{-1}로 56회 스캔하였다.

$$\text{Crystalinity INdex (CrI, \%)} = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (1)$$

*I_{200}: peak intensity of 2θ=18°, I_{am}: peak intensity of 2θ=22°

4. 효소가수분해

바이오매스 5 g과 50 mM sodium citrate buffer(pH 4.8) 50 mL를 혼합한 후 효소(Cellic® CTec3 HS, Novozyme, Denmark)를 첨가(121.5 μL/g)하였다. 효소가수분해는 50℃에서 113×g의 교반 속도로 수행하였다. 글루코오스 생산을 분석하기 위해 24시간 간격으로 시료를 취하여 HPLC로 분석하였다. 분석 조건은 전처리 액상가수분해산물 분석 조건과 같다(3항). 효소가수분해로 얻어진 글루코오스 생산량을 바탕으로 셀룰로오스에서 글루코오스 전환율을 계산하였다(식 2).

$$\text{Conversion rate of cellulose of glucose (\%)} = \frac{g\ of\ glucose\ by\ HPLC}{g\ of\ glucan\ \times\ 1.1} \times 100 \quad (2)$$

결과 및 고찰

1. 바이오매스 화학성분 및 액상가수분해 산물 분석

벌채부산물과 왕겨의 화학성분 분석 결과는 Table 1에 나타냈다. 회분은 왕겨가 11.45%로 벌채부산물(2.40%)보다 높게 나타났다. 회분은 단독 전처리와 연속 전처리에서 전처리 후 함량의 변화가 거의 없었다. 일반적으로 회분은 전처리 촉매의 중성화와 설비의 마모를 유도하여 전처리 효율에 부정적인 영향을 미친다. 특히, 왕겨의 회분의 대부분은 실리카로 구성되었으며, 실리카 층은 효소가수분해를 저해하는 물리적 장벽 역할을 한다[10,11]. 따라서, 회분 함량이 높은 왕겨의 전처리 및 효소가수분해 효율은 벌채부산물보다 낮을 것으로 예측된다. 벌채부산물과 왕겨의 글루칸 함량은 40.87%, 36.82%로 구성성분 중 가장 많은 부분을 차지하고 있으며, 헤미셀룰로오스 구성성분으로 자일란 함량이 가장 높았다. 수열처리 후 두 수종의 헤미셀룰로오스 함량은 감소하였다. 이는 H_2O의 이온화에 의해 생성된 하이드로늄 이온(H_3O^+)와 헤미셀룰로오스의 O-acetyl group이 분해되어 생성되는 아세트산과 기타 유기산에 의해 헤미셀룰로오스가 분해된 결과이다[12]. 수열처리 후 바이오매스의 글루칸과 리그닌 함량은 헤미셀룰로오스의 감소에 따라 상대적으로 증가하였다. 볼밀과 균질화 전처리는 기계적 작용으로 바이오매스의 화학성분 조성의 변화는 거의 없었다[13]. 물리적 전처리는 바이오매스 구성성분 분해에는 효과적이지 않지만, 입자크기 및 결정화도를 감소시켜 연속적으로 수열처리를 수행할 경우, 전처리와 효소가수분해에 효율적인 것으로 보고되고 있다[6,14]. 전반적으로 단일 전처리보다 연속 전처리에 의해 헤미셀룰로오스 분해가 촉진되었다. 특히, 두 수종에서 볼밀 후 수열처리한 바이오매스에서 헤미셀룰로오스 함량이 가장 많이 감소하였다. 이것은 균질화와 비교하여 볼밀 과정에서 바이오매스의 구조를 파괴하는 응력이 발생하여 입자 크기를 감소시켜, 수열처리에 의해 헤미셀룰로오스가 선택적으로 제거되었기 때문이다[15].

수열처리 후 액상가수분해 분석 결과와 전처리에 의한 바이오매스 분해율은 Fig. 2에 나타냈다. 수종 및 전처리 조건에 따라 바이오매스 구성성분의 분해 정도는 다르기 때문에 전처리 액상에서 검출되는 가수분해 산물의 종류와 함량은 차이를 나타냈다. 액상가수분해 산물로 단당류(글루코오스, 자일로오스 등), 유기산(아세트산, 포름산 등) 등이 검출되었다. 단일 전처리보다 연속 전처리 액상가수분해 산물 함량이 높게 나타났으며, 이것은 헤미셀룰로오스 분해에 의한 단당류 및 유기산 생산이 증가했기 때문이다. 균질화/수열 전처리는 수열처리와 비교하여 액상가수분해 산물의 종류와 함량의

Table 1. Chemical compositions of raw material and pretreated biomass (unit: %)

	Lignin	Glucan	Xylan	Galactan	Arabinan	Mannan	Ash
FP	29.79	40.87	13.07	6.01	2.94	6.01	2.40
	(0.56)	(1.80)	(0.71)	(0.37)	(1.35)	(0.55)	(0.10)
FP-HT	32.41	44.98	7.30	4.23	1.49	3.83	2.29
	(0.41)	(1.55)	(0.43)	(0.27)	(0.57)	(0.36)	(0.31)
FP-BM	28.96	40.09	12.28	5.47	2.95	5.96	3.19
	(0.32)	(1.99)	(0.58)	(0.25)	(0.03)	(0.52)	(0.34)
FP-HSH	31.11	42.22	13.24	6.09	3.65	5.93	2.02
	(0.18)	(0.62)	(1.96)	(0.46)	(0.59)	(0.49)	(0.05)
FP-BM/HT	35.51	49.22	5.80	3.83	1.29	2.40	2.15
	(1.48)	(0.24)	(0.26)	(0.24)	(0.24)	(0.23)	(0.06)
FP-HSH/HT	34.99	48.67	6.96	4.36	1.61	3.93	2.36
	(0.71)	(0.13)	(0.33)	(0.33)	(0.09)	(0.37)	(0.07)
RH	24.50	36.82	15.56	5.00	3.11	2.73	11.45
	(0.53)	(0.65)	(0.39)	(0.26)	(0.52)	(0.31)	(0.09)
RH-HT	24.74	40.53	9.43	4.03	3.00	1.54	11.26
	(1.52)	(1.52)	(0.50)	(0.59)	(0.48)	(0.23)	(0.13)
RH-BM	23.66	35.84	15.00	4.75	2.96	2.21	11.73
	(0.21)	(1.23)	(0.54)	(0.41)	(0.48)	(0.17)	(0.09)
RH-HSH	25.58	38.93	15.59	4.84	3.00	2.78	10.76
	(0.66)	(0.82)	(0.33)	(0.21)	(0.19)	(0.44)	(0.13)
RH-BM/HT	25.87	45.15	8.48	3.70	1.59	1.38	10.84
	(0.58)	(2.42)	(0.80)	(0.35)	(0.17)	(0.16)	(0.13)
RH-HSH/HT	25.16	44.45	11.93	4.15	2.01	1.89	11.73
	(0.58)	(1.48)	(0.83)	(0.20)	(0.33)	(0.26)	(0.08)

FP, forest by-products; RH, rice husk; HT, hydrothermal pretreatment; BM, ball-milling pretreatment; HSH, high-speed homogenization pretreatment.

차이는 거의 없었다. 반면, 볼밀/수열처리의 액상가수분해 산물 함량은 수열처리와 차이를 나타냈다. 이것은 볼밀 전처리가 균질화 전처리보다 수열처리에서 바이오매스의 분해와 다당류의 해중합에 효과적인 것을 의미한다. 전처리에 의한 분해율은 볼밀/수열처리에서 벌채부산물과 왕겨가 각각 32.84%, 13.04%로 가장 높았으며, 이것은 액상가수분해 산물 함량의 경향과 일치한다. 벌채부산물에서는 자일로오스가 1.14-1.35 g/L로 가장 많이 검출되었고, 왕겨는 0.22-0.23 g/L로 벌채부산물과 비교하여 검출량이 낮았다. 이것은 헤미셀룰로오스 분해 차이에 의한 것으로 바이오매스 구성성분 결과와 일치한다(Table 1). 모든 조건에서 글루코오스가 검출되었는데, 이것은 수열처리 과정에서 H^+의 촉매 작용에 의해 셀룰로오스의 글리코사이드 결합이 절단되어 분해된 것이다. 헤미셀룰로오스 분해와 비교하여 셀룰로오스 분해율이 낮아 자일로오스에 비해 글루코오스 검출량이 낮았다. 액상가수분해 산물에서 소량의 유기산(아세트산과 포름산)이 검출되었다. 아세트산은 수열처리 과정에서 H_2O의 이온화에 의해 생성된 하이드로늄 이온(H_3O^+)이 촉매로 작용하여 헤미셀룰로오스에 포함된 아세틸기 제거로 생성된다[16]. 수종에 따른 비교에서, 벌채부산물의 액상가수분해 산물의 함량과 분해율은 왕겨보다 모든 조건에서 높았으며, 왕겨는 단일 전처리와 연속 전처리의 차이가 크지 않았다. 따라서, 벌채부산물에 대한 볼밀/수열처리는 효소가수분해 효율을 향상시킬 것으로 기대된다.

2. 바이오매스 특성분석

전처리에 의한 바이오매스의 결정화도 변화는 Fig. 3에 나타냈다. 모든 바이오매스에서 결정성 셀룰로오스에 해당하는 16.8°, 22.8°, 34.6°에서 피크가 나타났다[17]. 볼밀 후 16.8°와 22.8°에서 넓은 피크를 확인하였으며, 이것은 볼의 마찰로 생성된 기계적 힘에 의해 바이오매스의 결정성 영역

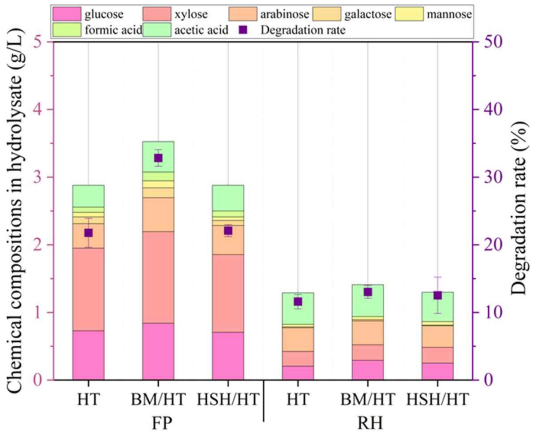

Fig. 2. Chemical compositions in hydrolysate and degradation rate of biomass during pretreatment. FP, forest by-products; RH, rice husk; HT, hydrothermal pretreatment; BM, ball-milling pretreatment; HSH, high-speed homogenization pretreatment.

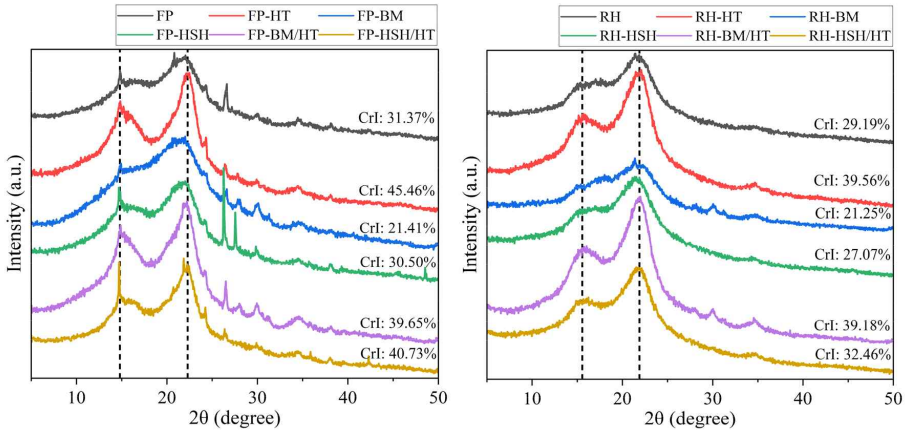

Fig. 3. XRD patterns of raw material and pretreated biomass. FP, forest by-products; RH, rice husk; HT, hydrothermal pretreatment; BM, ball-milling pretreatment; HSH, high-speed homogenization pretreatment; XRD, X-ray diffractometer.

이 파괴되었기 때문이다[18]. 따라서 결정화도는 벌채부산물에서 21.41%, 왕겨에서 21.25%로 나타났으며, 이것은 원시료(각각 31.37%와 29.19%)보다 감소한 결과이다. 바이오매스 결정화도의 감소는 셀룰로오스의 효소 접근성을 향상시켜 효소가수분해 효율에 긍정적인 영향을 줄 수 있다[19]. 균질화 전처리 바이오매스의 결정화도는 원시료와 비교하여 비슷하거나 약간 감소하였다. 본 연구에서 균질화 전처리 조건은 바이오매스 결정성 영역의 변화를 주기에 충분하지 않았다. 수열처리 후 바이오매스에서 16.8°, 22.8°, 34.6°에 해당하는 피크는 뚜렷하게 나타났으며, 이것은 결정화도가 증가하였음을 의미한다. 수열처리 과정에서 주로 비결정성인 헤미셀룰로오스가 분해되어 상대적으로 셀룰로오스의 결정 구조가 뚜렷하게 나타난 결과이다. 이것은 수열처리에 의한 바이오매스 구성성분 변화와 일치한다(Table 1). 두 수종에서 볼밀/수열처리 바이오매스의 결정화도는 볼밀 전처리와 비교하여 증가하였는데, 이것은 헤미셀룰로오스의 부분적 제거에 인한 상대적인 셀룰로오스의 증가에 의한 것이다[19].

전처리에 의한 바이오매스의 구조 변화를 FTIR(Fourier-transform infrared spectrometer) 스펙트럼 분석으로 확인하였다(Fig. 4). 두 수종에서 H_2O, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌의

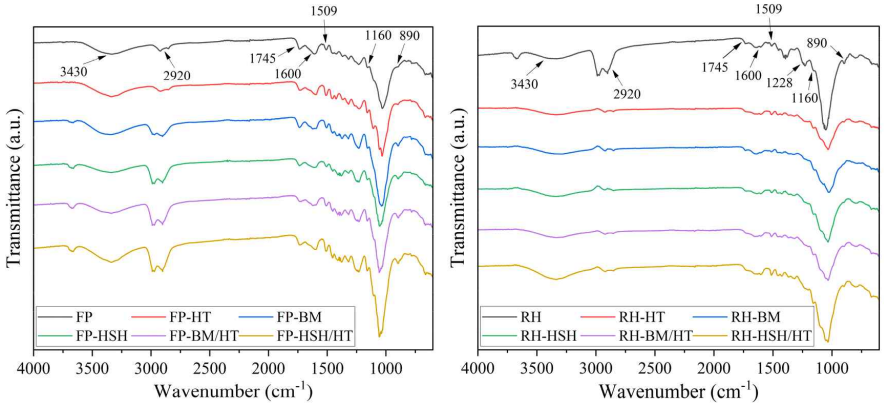

Fig. 4. FTIR spectrum of raw material and pretreated biomass. FP, forest by-products; RH, rice husk; HT, hydrothermal pretreatment; BM, ball-milling pretreatment; HSH, high-speed homogenization pretreatment; FTIR, Fourier-transform infrared spectrometer.

-OH 진동에 해당하는 3,430 cm^{-1} 영역과 탄수화물 및 리그닌의 CH 진동에 해당되는 2,920 cm^{-1}에서 피크가 나타났다. 헤미셀룰로오스 관련 피크는 1,745(C=O 진동 스트레칭)과 1,245(아세틸기의 C-O) cm^{-1}에 해당하며, 수열처리 후 피크의 강도가 감소하였다[20]. 볼밀/수열처리 후 헤미셀룰로오스 관련 피크는 거의 나타나지 않았는데, 이것은 전처리 과정에서 헤미셀룰로오스 분해에 대한 결과이다. 리그닌 관련 피크는 1,600(방향족 고리), 1,160(메톡실기의 CO 스트레칭), 1,509(방향족 고리의 C=C 스트레칭) cm^{-1}에서 나타났다[20,21]. 전처리 바이오매스에서 리그닌 관련 피크는 원시료와 비교하여 큰 차이가 없었다. 이것은 전처리 과정에서 리그닌의 분해가 거의 없었음을 의미한다. 셀룰로오스에 해당하는 대표적인 피크는 890 cm^{-1}에서 관찰되었으며, 이것은 β-glycoside 결합의 신축진동을 의미한다. 이 피크는 모든 조건에서 관찰되었으며, 전처리 후 피크의 강도가 약간 증가하였다[22]. 이것은 헤미셀룰로오스 분해에 의한 상대적인 셀룰로오스 함량의 증가에 의한 것으로, 전처리 과정에서 주로 셀룰로오스가 분해되지 않았음을 의미한다. 왕겨에서는 1,228 cm^{-1}에서 특징적인 피크가 나타났는데, 이것은 왕겨에 존재하는 실리카 결합의 진동에 의한 것이다[23].

3. 효소가수분해

바이오매스의 효소가수분해 결과는 Fig. 5에 나타냈다. 모든 바이오매스에서 효소가수분해 24시간 후 셀룰로오스에서 글루코오스 전환율은 급격하게 증가하였고, 이후 72시간까지 점진적으로 증가하였다. 72시간 효소가수분해 후, 볼밀/수열처리 바이오매스의 글루코오스 전환율이 벌채부산물에서 84.49%로 가장 높게 나타났다. 볼밀과 균질화 전처리에 의한 글루코오스 전환율은 볼밀 전처리 바이오매스에서 높았으며(벌채부산물 64.08%, 왕겨 16.82%), 이것은 바이오매스 결정성 영역의 파괴에 의한 효소의 접근성 향상에 의한 것이다(Fig. 3). 반면, 균질화 전처리 바이오매스의 글루코오스 전환율(벌채부산물 19.28%, 왕겨 15.31%)은 원시료(벌채부산물 20.94%, 왕겨 15.63%)와 유사하였다. 이것은 균질화 전처리에 의해 바이오매스의 구성성분 및 구조의 변화가 거의 없었기 때문이다(Table 1, Figs. 3 and 4). 원시료와 비교하여 수열처리 바이오매스에서 글루코오스 전환율은 증가하였으며, 이것은 헤미셀룰로오스 분해에 의해 셀룰로오스 표면이 노출되어 효소의 접근성이 향상되었기 때문이다[24]. 수종에 따른 비교에서, 벌채부산물에서 높은 효소가수분해 효율이 나타났다. 이것은 왕겨에 포함된 실리카가 효소 흡착에 부정적인 영향을 주었기 때문이다. 실리카는 왕겨 표면에 층을 형성하여 내층을 보호하기 때문에 효소의 접근을 방해한다[25,26]. 본 연구의 전처리 조건에서 회분의 함량 변화가 거의 없었기 때문에 왕겨의 효소가수분해 효율을 향상시키지 못했다. 종합하면, 볼밀과

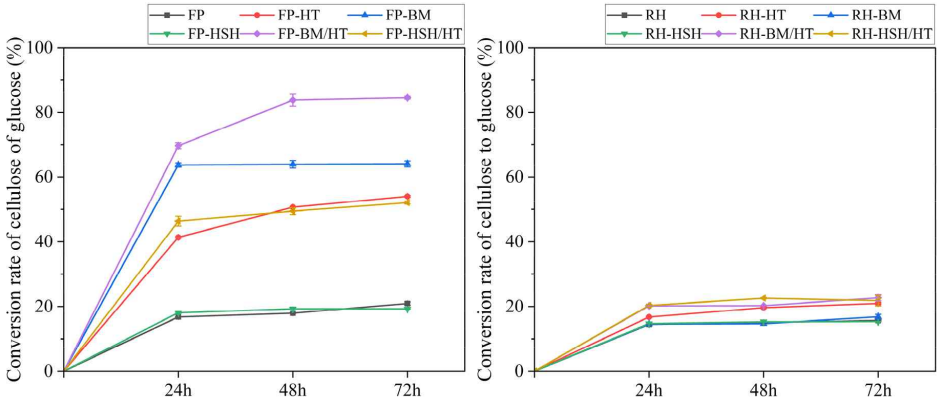

Fig. 5. Conversion rate of cellulose of glucose of biomass. FP, forest by-products; RH, rice husk; HT, hydrothermal pretreatment; BM, ball-milling pretreatment; HSH, high-speed homogenization pretreatment.

수열처리는 각각 효소가수분해 효율을 향상시키며, 볼밀/수열처리를 연속으로 수행했을 때 효소가수분해 효율 향상에 시너지 효과를 나타냈다. 따라서, 바이오매스 입자크기의 감소, 셀룰로오스의 결정화도 감소, 회분함량 및 무기물의 종류가 효소가수분해 효율에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

결 론

본 연구에서는 연속 전처리에 의한 바이오매스 효소가수분해 효율을 평가하였다. 특히, 벌채부산물에 볼밀과 수열처리를 연속 처리하였을 때 바이오매스 효소가수분해 효율이 향상되었다. 균질화 전처리는 바이오매스 구성성분 변환에 영향을 주지 못해서 수열처리를 연속 처리해도 전처리 및 효소가수분해 효율을 향상시키지 못했다. 벌채부산물과 비교하여 왕겨의 전처리와 효소가수분해 효율은 매우 낮았다. 이것은 회분 함량과 무기물 종류의 차이에 의한 것으로, 회분의 구성 중 실리카는 전처리와 효소가수분해 효율에 부정적인 영향을 준다. 따라서 왕겨의 효소가수분해 효율을 향상시키기 위해서 회분(실리카)을 제거할 필요가 있다. 본 연구의 전처리 조건에서는 회분을 충분히 제거하지 못해서 왕겨의 전처리와 효소가수분해 효율이 낮았다. 볼밀과 수열처리에 의해 벌채부산물의 입자크기와 셀룰로오스 결정화도가 감소되었고 헤미셀룰로오스가 선택적으로 제거되어 효소가수분해 효율이 향상되었다. 따라서 바이오매스 구성성분을 활용하기 위해서는 바이오매스 구성성분에 대한 이해와 이를 바탕으로 적합한 전처리 조건을 적용할 경우 효소가수분해 효율을 향상시킬 수 있다.

Conflict of Interest

The authors declare no potential conflict of interest.

References

1. Adamu H, Bello U, Yuguda, AU, Tafida UI, Jalam AM, Sabo A, et al. Production processes, techno-economic and policy challenges of bioenergy production from fruit and vegetable wastes. Renew Sustain Energy Rev. 2023;186:113686.
2. Ju Y, Ryu D, Kim DY, Lee E, Jang KH, Kim D. Grouping of unused agricultural

by-product biomass for fuel conversion in South Korea through multivariate analysis. Waste Manag. 2024;177:86-94.
3. Hofbauer C, Serna-Loaiza S, Windisch I, Scolari L, Koyun AN, Zelaya-Lainez L, et al. Comparison of coupled chemical pretreatment and mechanical refining of spruce sawdust: fiber network properties and initial production of lignin-bonded biocomposites. Biomass Convers Biorefin. 2024;14:15469-15482.
4. Anando AI, Ehsan MM, Karim MR, Bhuiyan AA, Ahiduzzaman M, Karim A. Thermochemical pretreatments to improve the fuel properties of rice husk: a review. Renew Energy. 2023;215:118917.
5. Abolore RS, Jaiswal S, Jaiswal AK. Green and sustainable pretreatment methods for cellulose extraction from lignocellulosic biomass and its applications: a review. Carbohydr Polym Technol Appl. 2024;7:100396.
6. Zhang F, Lan W, Zhang A, Liu C. Green approach to produce xylo-oligosaccharides and glucose by mechanical-hydrothermal pretreatment. Bioresour Technol. 2022; 344:126298.
7. Qu Y, Lv X, Qin N, Zhang K, Ding X, Luo L, et al. Mechanism of ball milling pretreatment to improve the anaerobic digestion performance and energy conversion efficiency of corn straw. Fuel. 2024;366:131409.
8. Singh S, Meena P, Saharan VK, Bhoi R, George S. Enhanced lipid recovery from Chlorella sp. biomass by green approach: a combination of ultrasonication and homogenization pre-treatment techniques (hybrid method) using aqueous deep eutectic solvents. Mater Today Proc. 2022;57:179-186.
9. Sluiter A. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory; 2008.
10. Park H, Cruz D, Tiller P, Johnson DK, Mittal A, Jameel H, et al. Effect of ash in paper sludge on enzymatic hydrolysis. Biomass Bioenergy. 2022;165:106567.
11. Díaz AB, Blandino A, Belleli C, Caro I. An effective process for pretreating rice husk to enhance enzyme hydrolysis. Ind Eng Chem Res. 2014;53:10870-10875.
12. Centeno AC, Muñoz SS, Gonçalves IS, Vera FPS, Forte MBS, da Silva SS, et al. Valorization of rice husk by hydrothermal processing to obtain valuable bioproducts: xylooligosaccharides and Monascus biopigment. Carbohydr Polym Technol Appl. 2023;6:100358.
13. Lee JH, Kwon JH, Kim TH, Choi WI. Impact of planetary ball mills on corn stover characteristics and enzymatic digestibility depending on grinding ball properties. Bioresour Technol. 2017;241:1094-1100.
14. Saratale GD, Saratale RG, Varjani S, Cho SK, Ghodake GS, Kadam A, et al. Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization. Ind Crops Prod. 2020;150:112425.
15. Yuan Z, Long J, Wang T, Shu R, Zhang Q, Ma L. Process intensification effect of ball milling on the hydrothermal pretreatment for corn straw enzymolysis. Energy Convers Manag. 2015;101:481-488.

16. Wang H, Hua Y, Li H, Chen L, Dai X. Comprehensive insights into hydrothermal pretreatment of rice straw from physicochemical structure, organic matter transformation and hydrolysate reuse. Chem Eng J. 2023;476:146809.
17. Zhang L, Yang X, Sheng Y, Huang Q, Yang Z, Shi Y, et al. Influence of typical pretreatment on cotton stalk conversion activity and bio-oil property during low temperature (180–220℃) hydrothermal process. Fuel. 2022;328:125250.
18. Ding K, Lin H, Liu L, Jia X, Zhang H, Tan Y, et al. Effect of ball milling on enzymatic sugar production from fractionated corn stover. Ind Crops Prod. 2023;196:116502.
19. Zakaria MR, Fujimoto S, Hirata S, Hassan MA. Ball milling pretreatment of oil palm biomass for enhancing enzymatic hydrolysis. Appl Biochem Biotechnol. 2014;173:1778–1789.
20. Toscano G, Maceratesi V, Leoni E, Stipa P, Laudadio E, Sabbatini S. FTIR spectroscopy for determination of the raw materials used in wood pellet production. Fuel. 2022;313:123017.
21. Wang C, Zhang S, Huang S, Cao Z, Xu J, Lyu J. Effect of hydrothermal treatment on biomass structure with evaluation of post-pyrolysis process for wood vinegar preparation. Fuel. 2021;305:121513.
22. Hafid HS, Omar FN, Zhu J, Wakisaka M. Enhanced crystallinity and thermal properties of cellulose from rice husk using acid hydrolysis treatment. Carbohydr Polym. 2021;260:117789.
23. Choudhary M, Jain SK, Devnani GL, Sonawane SRS, Singh D. Thermal kinetics and morphological investigation of alkaline treated rice husk biomass. J Indian Chem Soc. 2022;99:100444.
24. Xiao X, Bian J, Li MF, Xu H, Xiao B, Sun RC. Enhanced enzymatic hydrolysis of bamboo (Dendrocalamus giganteus Munro) culm by hydrothermal pretreatment. Bioresour Technol. 2014;159:41–47.
25. Song Y, Maskey S, Lee YG, Lee DS, Nguyen DT, Bae HJ. Optimizing bioconversion processes of rice husk into value-added products: D-psicose, bioethanol, and lactic acid. Bioresour Technol. 2024;395:130363.
26. Moreira BR, Breitkreitz MC, Simister R, McQueen-Mason SJ, Gomez LD, Rezende CA. Improved hydrolysis yields and silica recovery by design of experiments applied to acid-alkali pretreatment in rice husks. Ind Crops Prod. 2021;170:113676.