J. of Korean Oil Chemists' Soc.,
Vol. 20, No. 3. September, 2003. 251~258

효소촉매 전이에스테르화에 의한 대두유의 Biodiesel화

김 해 성

명지대학교 공과대학 화학공학과
(2003년 4월 14일 접수 ; 2003년 7월 7일 채택)

Enzyme-catalyzed Transesterification of Soybean Oil into Biodiesel

Hae-Sung Kim

Department of Chemical Engineering, Myongji University, Yongin 449-728, Korea
e-mail : seastar@mju.ac.kr
(Received April 14, 2003 ; Accepted July 7, 2003)

Abstract : Biodiesel as methyl esters derived from vegetable oils has considerable advantages in terms of environmental protetion. In the present work, methyl esters were produced from soybean oil by lipase-catalyzed transesterification. To reduce inactivation of commercial immobilized lipases emulsified two-step process was developed using the stepwise addition of methanol with 4:1 molar ratio at 4h intervals. Also with immobilized lipase from *Candida antarctica*(Novozym 435) high conversion of 98.5 percent was possible at 45℃ of reaction temperature with 4:1 of methanol-to-oil molar ratio and 1%(v/v) methyl glucoside oleic polyester as an emulsifier in the presence of cosolvent.

Keywords : enzyme-catalyzed transesterification , biodiesel, soybean oil.

1. 서 론

식물유의 주성분인 지방산 글리세린에스테르를 메탄올의 지방산에스테르로 전환시킨 바이오디젤(biodiesel)은 페트로디젤과 혼합하거나 단독으로 디젤엔진의 연료로 사용할 수 있는데, 글리세린에스테르보다는 메틸에스테르가 비교적 점도가 낮고 디젤엔진에서의 연소특성이 보다 더 우수함으로 지방산의 글리세린에스테르를 메탄올과 같은 단쇄기 알콜로써 화학촉매 혹은 효소촉매와 함께 전이에스테르화하여 지방산 메틸에스테르(fatty acid methyl ester)로 생산된다[1-3].

바이오디젤은 식물성유지나 동물성지방을 디젤연료로 사용하기 위한 대체연료로서 디젤엔진에 사용시에 기존연료와 성능은 비슷하지만 산소의 함유량이 높고 유황성분과 방향족탄화수소가 전무하여 인체에 유해한 배출가스를 저감할 수 있으며 생태계에 유출되어도 자연분해될 뿐만 아니라 발화점이 높아서 운송과 저장 시에 보다 더 안전한 환경친화적인 청정연료라 할 수 있다[4]. 또한, 석유와 석탄과 같이 대기중에 탄산가스를 배출하여 지구온난화 문제를 심화시키는 것이 아니라 대기중의 탄산가스가 식물의 탄소동화작용으로 에너지화된 재생에너지이므로 "기후변화협약"의 관점에서 소비촉진되어야 할 대체에너지로서, 유럽연합과 미국 등의 선진국에서는 정부주도로 적극적인 바이오디젤의 생산계획과 세금감면혜택으로 바이오디젤의 사용을 장려하고 정부소유차량의 일정량은 바이오디젤

을 사용하도록 의무화하기로 하였다[5].

바이오디젤의 생산기술[6]은 직접이용법, 마이크로에멀젼법, 열분해법 및 전이에스테르화법으로 구분할 수 있는데, 바이오디젤을 대규모 생산하는 상용공정은 모두 전이에스테르화법으로서 식물성유지와 동물성지방을 촉매 존재 하에서 메탄올로 전이에스테르화하여 지방산의 메틸에스테르와 글리세린을 얻고 글리세린을 원심분리법으로 분리시키면 고순도의 지방산 메틸에스테르로 이루어진 바이오디젤을 생산할 수 있다[7].

전이에스테르화 촉매는 알칼리촉매, 산촉매 및 효소촉매로 구분되며 수분과 유리지방산이 없는 반응계에서는 알칼리촉매가 효과적이지만 수분과 유리지방산의 함량이 높은 유지를 사용하는 경우에는 촉매작용을 나타내는 메톡시드 이온이 불활성화 됨으로 전처리공정이 필요하고 산촉매공정은 식물유지와 메탄올의 몰비가 1:30은 되어야 높은 전화율을 얻을 수 있다. 90년대에 바이오디젤의 대체에너지로서의 중요성이 부각되면서 Wimmer[8], Connemann[9], Ma [10] 등에 의하여 화학적 전이에스테르화법을 중심으로 공정개선이 이루어졌고, 1998년 처음으로 Foglia [11]가 리파제를 이용한 효소적 전이에스테르화법을 특허출원하였다. 효소촉매 전이에스테르화에 관한 Foglia의 특허는 식물성유지와 동물성지방 및 사용후유지로부터 바이오디젤을 생산하기 위한 특허로 앞으로 유망한 생산기술로 발전될 것으로 기대된다.

효소촉매공정은 알칼리촉매공정의 문제점을 극복할 수 있다는 이점이 있으나 바이오디젤의 생산비 중 효소비용의 비중이 커서 알칼리촉매공정과 경쟁하기에는 경제성이 의문시됨으로 생산공정으로 발전되지는 못하였으며, 효소반응기술의 발전과 함께 효소활성과 수명이 우수한 효소가 유전공학적 기법으로 개발됨에 따라서 리파제촉매 전이에스테르화법[12]을 중심으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 최근에 Novo Nordisk사에서 유전자조작기법으로 생산되는 Novozym 435 효소는 효소활성도와 내열성이 우수하고 반복 사용하여도 쉽게 불활성화되지 않으므로 리파제촉매 전이에스테르화 공정은 유망한 차세대 산업화공정으로 발전될 것으로 기대된다[13].

본 연구에서 제시한 리파제촉매 전이에스테르화공정은 대두유와 메탄올을 메틸글루코시드 올레산폴리에스테르(methyl glucoside oleic polyester)로 유화시킴으로서 메탄올에 의한 효소촉매의 불활성화를 억제시키고 알칼리촉매공정의 문제점을 극복함은 물론 반응속도와 수율이 높고 바이오디젤의 생산비용이 절감되는 반응조건을 설정할 수 있다. 본 연구에서는 리파제촉매를 사용하는 유화전이에스테르화 공정에서 지방산 메틸에스테르의 수율에 미치는 몰비, 유화제 첨가량 및 반응시간의 영향을 규명하고 전이에스테르화 공정의 반응조건을 최적화하여 효소촉매공정의 생산성을 향상시켰다.

2. 실 험

2.1. 실험재료

바이오디젤을 제조하기 위한 원료유지로는 대두유(soybean oil, 제일제당)을 사용하였고, 지방산 메틸에스테르의 조성은 중량백분율로 각각 56.8% LAME(linoleic acid methyl ester), 22.1% OAME(oleic acid methyl ester), 10.3% PAME(palmitic acid methyl ester), 7.4% LNME(linolenic acid methyl ester), 기타 3.4%이다.

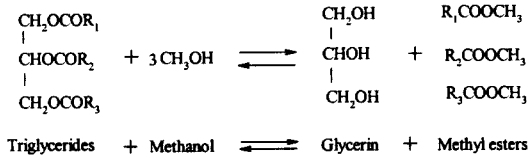
효소촉매는 Novo Nordisk에서 개발한 *Candida antarctica* 기원의 Novozym 435(EC 3.1.1.3, 활성도 7000PLU(Propyl Laurate Units)/g) 고정화 리파제를 사용하였고, 전이에스테르화 반응에서 사용되는 알콜로는 무수메탄올(HPLC grade, Fisher)를 사용하였으며, 유화제로는 메틸글루코시드 올레산 폴리에스테르(methyl glucoside oleic polyester)를 사용하였다.

HPLC를 이용한 분석시, 표준시약으로는 Sigma Chemical제 올레산 메틸에스테르(oleic acid methyl ester), 리놀레산 메틸에스테르(linoleic acid methyl ester), 리놀렌산 메틸에스테르(linolenic acid methyl ester), 팔미트산 메틸에스테르(palmitic acid methyl ester)를 사용하였고, 분석용매와 추출용매는 모두 HPLC급 시약을 사용하였다.

2.2. 실험방법

대두유의 전이에스테르화 반응에 미치는 메탄올과 유지의 몰비 및 메탄올의 투입방식, 유화제의 첨가량, 반응시간의 영향을 규명하기 위하

여 45℃로 항온시킨 내용적 50㎖의 교반반응기에서 대두유와 메탄올을 Novozym 435(대두유에 대한 중량백분율 : 10%)로 전이에스테르화시키고



효소를 여과하여 반응을 정지시킨 다음에 생성된 바이오디젤의 조성과 지방산메틸에스테르의 수율을 HPLC법으로 측정하고, 효소촉매 반응조건을 검토하였다. 효소를 여과하여 반응을 정지시킨 시료는 진공증류하여 미반응 메탄올을 제거하고 클로로포름과 노르말헥산의 혼합용매(혼합비, 1:2)로 용매추출하고 원심분리하면 글리세린이 분리된다. 용매추출한 상등액 1㎖를 취하여 60℃에서 클로로포름과 헥산을 진공증류하고 0℃에서 무수메탄올로 지방산 메틸에스테르를 선택적으로 추출하여 적당한 농도로 희석한다. 시료 중 지방산 메틸에스테르는 옥타데실실리카칼럼(ODS II, 4.6mm × 250mm, Waters)을 고정상으로 하고 아세톤과 아세토니트릴 및 초순수(체적비, 48:48:4, 유량 1ml/min)를 이동상으로 하여 UV검출기(Waters 486, 205mm)로 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 리파제촉매 전이에스테르화 반응에 미치는 유화효과

전이에스테르화 반응의 출발물질인 유지와 메탄올은 상호용해도가 낮고 비극성 화합물인 지방산글리세리드로 이루어진 유지는 소수성인 반면에 극성화합물인 메탄올은 친수성이므로 교반하여도 쉽게 혼화되지 않고 유지상에 메탄올이 액적으로 분산되는 불균일상 반응계를 이룬다. 알칼리촉매공정에서 촉매로 작용하는 메톡시드 이온은 유지의 카보닐기와 활성화합물을 형성하기 위해서 메탄올과 함께 유지상으로 물질이동하여야 하는데, 분산효과가 충분하지 못하면 메탄올과 메톡시드 이온의 물질이동이 전이에스테르화 반응속도와 수율을 감소시고, 수분과 유리지방산에 의해서 불활성화 된다. 알칼리촉매공정의 문제점을 해결하기 위해서는 유지와 메탄올의 용해도가 증가하도록 반응온도를 높게 설정해야 하고, 원료유지의 수분과 유리지방산을 제거하기 위한 전처리공정이 추가되어야 하므로 바이오디젤의 생산비를 가중시키게 된다.

본 연구에서는 3급부탄올을 상용용매로 하고, 유지내에 친수성인 메탄올을 수미크론 크기로 유화시키는 W/O형 계면활성제로서 메틸글루코시드 올레산 폴리에스테르를 사용하는 효소촉매 유화전이에스테르화 공정을 제시하였다. 효소촉매로 선택된 Novozym 435는 *C. antarctica*를 유전자 재조합기술로 개량하여 얻은 리파제를 아크릴수지에 고정화시킨 효소로서, 40~60℃에서 최적활성을 갖는 안정성이 매우 뛰어난 효소로 보고되어 있다[14]. 리파제의 활성부위는 평상시에는 닫힌구조의 불활성화 상태이며, 리파제가 활성화되기 위해서는 유지의 계면흡착에 의하여 열린 활성구조로 전환되어야 한다. 소수성이 큰 유지가 효소표면에 계면흡착이 이루어지기 위해서는 유지와 리파제의 계면흡착이 용이하도록 상용용매와 유화제를 사용하여야 하는데, 상용용매로 사용가능한 용매로는 유지와 상호용해도가 높고 입체장애에 의하여 효소의 기질로 작용하지 못하는 3급부탄올를 선정하였다. 유화제는 상용용매, 메탄올 및 유지와 함께 균일상을 이루고 효소표면에서 계면흡착에 의한 효소활성화를 촉진하며 반응생성물인 글리세린분자를 W/O형 에멀젼으로 차폐시켜서 전이에스테르화 반응이 비가역적으로 진행됨은 물론 전이에스테르화에 대한 수분의 저해작용을 억제시킬 뿐 만이 아니라 메탄올에 의한 효소의 불활성화를 방지할 수 있다.

Fig 1에는 효소촉매에 의한 대두유의 전이에스테르화 반응에 미치는 유화제 함량의 영향을 도시하였고, 3급부탄올과 메탄올의 체적비 1:1, 대두유에 대한 메탄올의 몰비 1:4로 4시간마다 2단계로 8시간 반응시킬 때, 대두유에 대한 체적백분율로 유화제 첨가량을 변화시키면서 대두유의 주성분인 올레산 메틸에스테르, 리놀레산 메틸에스테르 및 리놀렌산 메틸에스테르의 수율을 측정하여 최적 유화제 함량을 결정하였다. 리파제효소는 Novo Nordisk에서 권고한 바 같이 반응속도와 생산성을 고려하여 대두유에 대한 중량백분율로 10% 첨가하였다. Fig. 1에 나타낸 바와같이 지방산 메틸에스테르의 수율은

유화제 함량에 따라서 증가하는 경향을 나타내었고, 체적백분율 1%에서 최대치에 도달하였음으로 최적 유화제 함량은 대두유에 대한 체적백분율로 1%임을 알 수 있었다. 유화제를 첨가하지 않은 경우에는 불포화도가 높은 리놀레산 메틸에스테르와 리놀렌산 메틸에스테르의 수율이 불포화도가 낮은 올레산 메틸에스테르보다 더 높았으며, 불포화도가 높은 지방산이 계면흡착이 용이하여 라파제의 활성화도를 높인 것으로 판단된다. 그러나, 유화제가 첨가되면 불포화도에 상관없이 계면흡착이 촉진되었고 리파제 활성도가 증가하였으며, 메틸글루코시드 올레산 폴리에스테르 첨가량이 1%일 때 각 지방산 메틸에스테르의 수율은 98.5%에 도달하였다.본 연구에서는 유화제와 상용용매를 사용하여 대두유와 메탄올의 완전혼화가 가능하고 유화효과에 의한 계면흡착이 촉진됨으로 효소활성도를 높게 유지하였으며 효소촉매공정의 단위생산비 중 가장 비중이 큰 효소비용을 획기적으로 절감함으로써 알칼리촉매공정과 대등한 경쟁력을 확보할 것으로 기대된다.

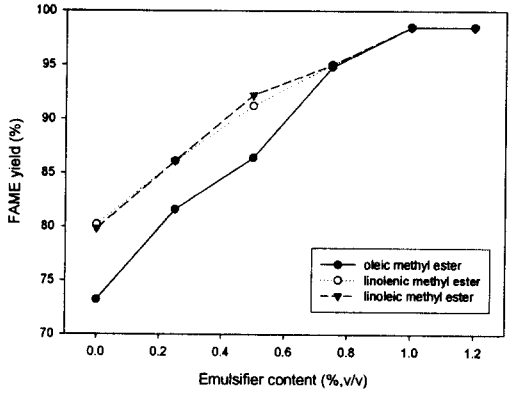


Fig. 1. Effect of emulsifier content on FAME yield of lipase-catalyzed transesterification.

3.2. 대두유에 대한 메탄올 몰비의 영향

전이에스테르화 반응은 가역반응임으로 지방산 메틸에스테르의 수율과 전이에스테르화 반응속도를 높이기 위해서는 유지에 대한 메탄올의 몰비가 이론당량비 1:3보다도 높게 유지되어야 하는데, 한계몰비 이상이 되면 미반응 메탄올의 재순환 비용이 증가하고 효소의 불활성화가 시작된다. 1% 알칼리촉매를 사용하여 유채유의 전이에스테르화 반응을 연구한 Nimcevic 등[15]의 연구결과에 의하면 메탄올 몰비 1:6이 최적 몰비임을 밝혔고, 대두유, 해바라기 기름, 면실유 등의 식물성 25유지의 전이에스테르화 반응에 관한 체계적인 연구를 수행한 Freedman 등[16]은 60℃, 0.5% $NaOCH_3$, 몰비 1:6에서 93~98% 수준의 전화율을 얻었으며, Noureddini 등[17]이 제시한 대두유의 연속식 전이에스테르화 공정에서는 몰비 1:6보다는 1:8에서 더 높은 전화율에 도달하였다. 효소촉매에 의한 식물성 유지의 전이에스테르화 반응을 연구한 Watanabe 등[18]은 30℃, *C. antarctica* lipase 4%, 메탄올 몰비 2:3에서 2단계로 36시간 반응한 결과 96.1%의 수율을 얻었다. 효소촉매의 경우에 가장 큰 문제점은 메탄올에 의한 효소의 불활성화이며 과량의 메탄올이 투입될 경우 전이에스테르화 반응은 정지됨으로, 수율을 높이기 위해서는 메탄올 몰비는 이론당량몰비 1:3이상 되어야 하지만 반응초기에는 1:1.5이하로 유지해야 효소의 불활성화를 막을 수 있다[14].

Fig. 2에는 대두유의 전이에스테르화 반응에서 반응온도 45℃, Novozym 435 10%(w/w), 반응시간 3시간일 때 지방산 메틸에스테르의 수율에 미치는 대두유에 대한 메탄올 몰비의 영향을 도시하였다. 유지에 대한 메탄올의 몰비가 1:1.5이상이 되면 라파제 효소가 비가역적으로 불활성화 된다는 Shimada 등의 연구결과에 따라서 몰비 1:1.5로 90분마다 2단계로 메탄올을 첨가한 경우에 지방산 메틸에스테르의 수율(A)은 10%이고, 유화제 1%와 함께 몰비 1:1.5로 90분마다 2단계로 메탄올을 첨가한 경우의 수율(B)은 28%로 약 3배 증가하였다. 유화제 1%와 함께 몰비 1:3으로 1단계로 메탄올을 첨가한 경우(C)의 수율은 29%로 B의 경우와 거의 동일하였다. A와 B 및 C의 연구결과로부터 1%유화제를 첨가하면 유지에 대한 메탄올의 몰비가 1:3이 되어도 Novozym 435는 불활성화 되지 않는다는 것을 알 수 있었다. 그러나, 유화제 1%와 함께 몰비 1:6으로 메탄올을 첨가하면(F) 지방산 메틸에스테르의 수율은 급격히 감소하였고 리파제 효소는 과량의 메탄올에 의하여 불활성화 되었다. 지방산 메틸에스테르의 수율을 높이기 위해서는 가능한 메탄올의 몰비를 높게 유지해야 하지만 몰비가 높으면 유화제를 첨가하여도 라파제의 불활성화가 일어나므로, 유화제 1%와 함께 메탄올 몰비 1:1.5와 1:4.5로 2단계

첨가법(E)을 시행한 결과 지방산 메틸에스테르의 수율이 33.1%로 증가하였다. C와 F 및 E의 연구결과로부터 리파제가 불활성화되지 않는 메탄올의 몰비는 1:4.5이하이어야 하고, 유지와 리파제의 계면흡착을 촉진시킴으로서 지방산메틸에스테르의 수율을 높이기 위해서는 상용용매가 필요하다고 판단되었다.

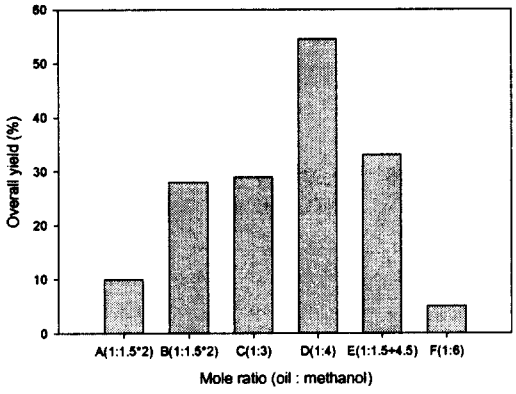


Fig. 2. Effect of mole ratio on overall yield of lipase-catalyzed transesterification.

Fig. 2의 D는 유화제 1%와 함께 상용용매로 3급부탄올을 메탄올에 대한 체적비 1:1로 첨가하고 대두유에 대한 메탄올 몰비 1:4, 반응온도 45℃, 반응시간 3시간일 때 지방산 메틸에스테르의 수율을 도시한 것으로, 2단계의 총 몰비가 1:6인 E경우보다도 65%가 증가한 54.5%의 수율을 얻었다. Fig. 2의 연구결과를 종합해보면 유화제 1%와 메탄올에 대한 체적비 1:1인 3급부탄올을 첨가하므로서 메탄올에 의한 Novozym 435의 불활성화가 시작되는 한계몰비를 1:1.5에서 1:4로 증가시켰고 다단계 메탄올 첨가법을 시행하면 98.5%이상의 수율을 얻을 수 있다고 판단된다.

3.3. 지방산 메틸에스테르의 수율과 반응시간

전이에스테르화 반응조건은 유지에 대한 메탄올 몰비, 반응온도와 반응시간이 평형전화율과 반응속도에 미치는 영향을 비교분석하여 설정되는데 반응온도와 반응시간은 바이오디젤의 생산성에 관계되는 중요한 조업인자이다. 일반적으로 반응온도가 높을수록 전이에스테르화 반응속도가 빠르고 유지와 메탄올의 상호용해도가 증가하면서 평형전화율도 증가하므로, 알칼리촉매공정에서는 메탄올의 비점부근에서 한계반응온도가 설정되고 산촉매공정에서는 유지에 대한 메탄올의 몰비를 높게 유지함은 물론 반응온도도 100℃이상으로 하여야 하며 산촉매공정보다는 알칼리촉매공정이 보다 더 유리하다. 알칼리촉매공정은 유지에 대한 메탄올 몰비 1:6, 반응온도 60~70℃에서 반응시간 1시간이내에 95% 이상의 수율은 얻으나, 원료유지중 유리지방산과 수분이 수율에 미치는 영향이 크고 유지의 전처리 비용과 바이오디젤의 정제비용 및 폐수처리 비용의 과다로 바이오디젤의 단위생산비를 가중시킨다. 효소촉매공정은 Table 1[19]에 나타낸 바와 같이 알칼리촉매공정의 문제점을 해결함은 물론 장치비용과 조업비용을 절약할 수 있으나, 바이오디젤의 생산비 중 효소비용의 비중이 크고 상대적으로 반응시간이 길어서 바이

Table 1. Comparison between Alkali-Catalysis and Lipase-Catalysis Processes for Biodiesel Fuel Production

	Alkali-catalysis process	Lipase-catalysis process
Reaction temperature	60-70℃	40-50℃
Reaction time	within 1hr	more than 8hr
Free fatty acids	Saponified products	Methyl esters
Water in raw materials	Interference with the reaction	No influence
Yield of methyl esters	Normal	Higher
Recovery of glycerol	Difficult	Easy
Purification of methyl esters	Repeated washing	None
Production cost of catalyst	Cheap	Relatively expensive
Waste treatment	Difficult	Easy

오디젤의 생산성이 저하하게 된다.

효소촉매공정의 경제성을 확보하기 위해서는 효소의 불활성화를 억제할 수 있는 반응조건과 반응시간이 가능한 한 단축되어야 할 것으로 판단된다. Fig.3 에는 리파제촉매에 의한 대두유의 전이에스테르화 반응에서 유화제 1%(v/v), 3급부탄올과 메탄올의 체적비 1:1, 대두유에 대한 메탄올의 몰비 1:4, Novozym 435 10%(w/w), 반응온도 45℃ 일 때 지방산 메틸에스테르의 수율에 미치는 반응시간의 영향을 도시하였다. 대두유의 주성분인 리놀렌산 메틸에스테르, 리놀레산 메틸에스테르 및 올레산 메틸에스테르의 수율은 4시간이 경과한 후에 각각 69.0%, 70.6%, 73.9%에 도달하였고, 8시간 후의 최대수율은 리놀렌산 메틸에스테스 79.4%, 리놀레산 메틸에스테르 79.6%, 올레산 메틸에스테르 85.1% 가 되었다.상대적으로 불포화도가 낮은 유지는 가역반응성이 낮으므로 올레산 메틸에스테르의 수율은 높고, 불포화도가 높아서 가역반응성이 큰 리놀레산 메틸에스테르와 리놀렌산 메틸에스테르의 수율은 상대적으로 낮은 경향을 보였다. Shimada 등[12]은 메탄올 몰비 1:0.33, 리파제 4%(w/w), 반응온도 30℃ 일때 7시간 후의 최대전화율 33%을 얻었다. 리파제촉매공정에서 지방산 메틸에스테르의 수율과 유지의 전화율을 높이고 반응시간을 단축하기 위해서는 유지에 대한 메탄올 몰비를 1:3이상으로 높게 유지하고 가능한 한 효소촉매의 첨가량을 증가시켜야 하는데, 메탄올의 몰비를 증가시키면 리파제가 메탄올에 의하여 불활성화 되는 문제점

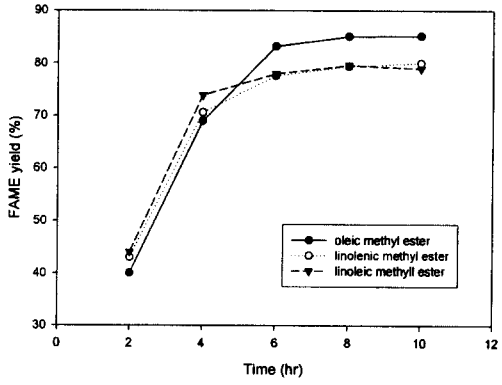


Fig. 3. Effect of reaction time on FAME yield of lipase-catalyzed transesterification.

을 해결하여야 한다. Shimada 등은 매탄올 몰비를 1:0.33 으로 낮게 유지하여 리파제 효소의 불활성화를 억제하였으나, 효소첨가량과 전화율은 낮을 수 밖에 없었다. 본 연구에서는 3급부탄올을 상용용매로 하고 메틸글루코시드 올레산 폴리에스테르를 유화제로 첨가하여 메탄올 몰비가 1:4 임에도 불구하고 효소촉매의 불활성화를 억제할 수 있고, Novozym 435 첨가량을 10%(w/w) 로 높게 유지함으로서 반응시간을 단축하고 지방산 메틸에스테르의 수율을 Shimada 등의 연구결과보다도 2배이상 증가시킬 수 있었다.

3.4. 다단계 효소촉매공정

효소촉매에 의한 대두유의 전이에스테르화공정에서 바이오디젤의 생산성과 경제성을 높이기 위해서는 효소촉매의 불활성화를 억제하여 효소활성도를 높이고 반응시간을 단축하여 지방산 메틸에스테르의 수율이 98.5%이상이 되어야 한다. 지금까지 발표된 효소촉매공정은 리파제가 메탄올에 의하여 불활성화 되지 않은 몰비로 메탄올을 다단계로 주입하여 전화율과 수율을 높이는 다단계공정을 채택하였다. Table 2는 대표적 다단계 효소촉매공정으로 지방산 메틸에스테르의 수율을 높이기 위하여 3단계로 매탄올을 투입하였으나 반응시간 8시간 이내에 98.5%이상의 수율에 도달할 수는 없었다.

Fig. 4 는 본 연구에서 개발한 유화효소촉매공정의 수율과 반응시간을 도시한 것으로 유화제 1%(v/v), 반응온도 45℃, Novozym 435 10%(w/w) 일 때 메탄올 몰비와 첨가방법 및 상용용매가 바이오디젤의 수율에 미치는 영향을 검토하였다. 대두유에 대한 메탄올의 몰비가 1:3 인 1단계공정에서는 8시간이 지나자 최대수율 61%에 도달하였고, 메탄올 몰비가 1:1.5 인 4단계공정에서는 70.5%에 도달하였다. 그러나, 메탄올에 대한 체적비 1:1 로 3급부탄올을 상용용매로 사용하고 대두유에 대한 메탄올의 몰비 1:4 인 1단계공정에서는 4시간 후의 수율이 71.3%이고 6시간 경과시 80%의 수율에 도달하였다. 유화제 1%(v/v), 메탄올에 대한 3급부탄올의 체적비 1:1, Novozym 435 10%(w/w), 반응온도 45℃ 일 때 반응초기와 반응시간 4시간에서 대두유에 대한 메탄올의 몰비 1:4로 메탄올을 2회 첨가한 2단계공정에서는 바이오디젤의

Table 2. Lipase-Catalyzed Transesterification with Stepwise Addition of Methanol

Lipase	Process and operation	Mole ratio	Reaction time(h)	Methyl ester yield(%)	Ref.
C. antarctica (Novozym435)	Repeated fed-batch operation	1:1	48	96~98	14
	Continuous operation	1:3	7	92~94	18
	Fed-batch operation	1:1	3.5	87	13
C. rugosa, P. cepacia, P. fluorescence	Fed-batch operation	1:1	80~90	80-100	21
R. oryzae(F-AP15)	Fed-batch operation	1:1	70	80-90	22
R. oryzae IFO4697	Fed-batch operation	1:1	72	80-90	23

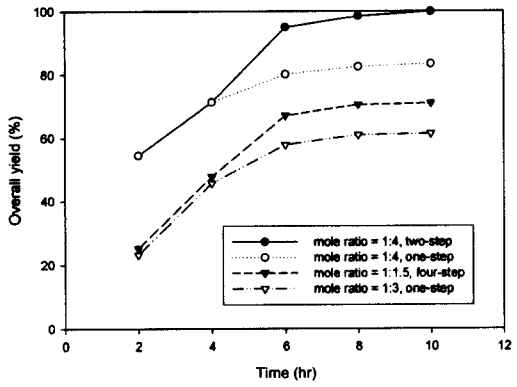


Fig. 4. Time courses of lipase-catalyzed transesterification with stepwise addition of methanol.

수율이 6시간 후에 95%이고 8시간 이후에는 98.5% 이상의 수율을 나타내었다. 이와같은 연구결과로부터 Novozym 435를 사용하는 2단계 고정층효소반응기를 설계한다면 바이오디젤의 생산성을 높이고 분리정제비용과 에너지비용 및 폐수처리비용을 획기적으로 절감할 수 있을 것으로 기대된다.

4. 결 론

대두유의 효소촉매 전이에스테르화에 의한 바이오디젤의 생산기술을 연구개발함에 있어서 지방산 메틸에스테르의 수율에 미치는 메탄올 몰비, 상용용매와 유화제 첨가량 및 반응시간의 영향을 규명하고 전이에스테르화 공정의 반응조건을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

효소촉매 Novozym 435를 이용한 유화전이에스테르화 공정의 반응조건을 반응온도 45℃에서 최적화한 결과 대두유에 대한 메탄올 몰비 1:4, 유화제 첨가량 1%(v/v), 메탄올과 3급부탄올의 체적비 1:1, Novozym 435 10%(w/w) 일때 2단계 유화전이에스테르화 공정으로 바이오디젤 수율 98.5%를 얻었다.

참고문헌

1. Y. Zhang, M. A. Dube', D. D. Mclean, and M. Kates, *Bioresouce Technology*, 89, 1 (2003).
2. J. B. Williams, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 361 (2002).
3. W. Körbitz, *Renewable Energy*, 16, 1078 (1999).
4. M. S. Graboski and R. L. McCormick, *Prog. Energy Combust. Sci.*, 24, 125 (1998).
5. A. Srivastava and R. Prasad, *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 4, 111 (2000).
6. F. Ma and M. A. Hanna, *Bioresource Technology*, 70, 1 (1999).
7. X. Lang, A. K. Dalai, N. N. Bakhshi, M. J. Reaney, and P. B. Hertz, *Bioresource Technology*, 80, 53 (2001).
8. T. Wimmer, PCT Int. Appl. WO 9200-9268 (1992).

9. J. Connemann, A. Krallmann, and E. Fischer, U. S. Patent 5,354,878 (1994).
10. F. Ma, D. Clements, and M. A. Hanna, *Bioresource Technology*, 69, 289 (1999).
11. T. A. Foglia, U. S. Patent 5,713,965 (1998).
12. Y. Shimada, Y. Watanabe, A. Sugihara, and Y. Tominaga, *J. of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 17, 133 (2002).
13. T. Samukawa, M. Kaieda, and H. Fukuda, *J. Biosci. Bioeng.*, 90(2), 180 (2000).
14. Y. SHimada, Y. Watanabe, and T. Samukawa, *JAOCS*, 76, 789 (1999).
15. D. Nimcevic, R. Puntigam, M. Wörgetter, and J. R. Gapes, *JAOCS*, 77, 275 (2000).
16. B. Freedman, E. H Pryde, and T. L. Mounts, *JAOCS*, 61, 1638 (1984).
17. H. Noureddini, D. Harkey, and V. Medikonduru, *JAOCS*, 75, 1775 (1998).
18. Y. Watanabe, Y. Shimada, and A. Sugihara, *JAOCS*, 77, 355 (2000).
19. H. Fukuda, A. Kondo, and H. Noda, *J. Biosci. Bioeng.*, 92, 405 (2001).
20. Y. Chimada, A. Sugihara, and Y. Minamigawa, *JAOCS*, 75, 1213 (1998).
21. M. Kaieda, T. Samukawa, A. Kondo, and H. Fukuda, *J. Biosci. Bioeng.*, 91, 12 (2001).
22. M. Kaieda, T. Samukaw, and T. Matsumoto, *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 627 (1999).
23. K. Ban, M. Kaieda, and T. Matsumoto, *Biochem. Eng. J.*, 8, 39 (2001).