

Lipase-catalyst를 이용한 프레싱 스크랩의 바이오디젤 제조에 관한 연구

신수범^{1,*} · 민병욱¹ · 양승훈¹ · 박민석¹ · 김해성² · 김백호³ · 백두현⁴¹한국신발 · 피혁연구소 피혁연구센터, ²명지대학교 화학공학과, ³(주)넥센코, ⁴충남대학교 섬유공학과

Production of Biodiesel from Fleshing Scrap Using Immobilized Lipase-catalyst

Soo-Beom Shin^{1,*}, Byung-Wook Min¹, Seung-Hun Yang¹, Min-Seok Park¹,
Hae-Sung Kim², Baik-Ho Kim³ and Doo-Hyun Baik⁴¹Korea Institute of Footwear & Leather Technology, Dongducheon 483-080, Korea²Department of Chemical Engineering, Myongji University, Yongin 449-728, Korea³NEXENCO Co. Ltd., Jecheon 390-822, Korea⁴Department of Textile Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received August 4, 2008; Accepted September 8, 2008

This study was carried out to investigate the reaction of lipase-catalyst transesterification using animal fat recovered from fleshing scrap generated during leather making process. Transesterification reaction between fat and primary or secondary alcohol was carried out under the condition of immobilized enzyme catalyst. The conversion rate was the highest when 1.5 mole of methanol was injected by 4 times. As for lipase, *Candida antarctica* showed the highest conversion rate of 82.2% among the 4 different lipases. It was found that water contained in the fat causes lower conversion rate. The condition of 1.2wt.% of water in the fat decreased the conversion rate by 40%. It was considered that the resulted reactant, fatty acid ester could be used as raw material for biodiesel with the characteristics of not generating SOx and diminishing smoke.

Key words: biodiesel, conversion, fleshing scrap, lipase catalyst, transesterification

서 론

동 · 식물성 원료로부터 만들어지는 바이오디젤은 화석 연료에 비해서 sulfur oxide를 발생시키지 않으며, 매연은 화석 연료에 비해서 1/3 정도로 최소화 된다. 이러한 친환경적 유리한 점 때문에 바이오디젤은 전통적인 디젤연료의 대체연료로서 주목받고 있다. 바이오디젤의 생산기술은 직접이용법, 마이크로에멀전법, 열분해법 및 전이에스테르화법으로 구분할 수 있는데, 바이오디젤을 대규모 생산하는 상용공정에서는 유지를 촉매 존재 하에서 알콜로 전이에스테르화한 후 글리세린을 원심분리법으로 분리시키면 고순도의 지방산 메틸에스테르로 이루어진 바이오디젤을 생산할 수 있다.^{1,2)} 바이오디젤 제조에서 사용하는 촉매로는 알칼리 촉매, 산 촉매, 효소 촉매로 구분되어지며, 수분과 유리지방산이 없는 반응계에서는 알칼리 촉매가 효과적이다.

프레싱 스크랩은 피혁 제조 공정 중 제육공정에서 발생하는 부산물로서 대부분의 기름(80%)과 단백질(20%)로 이루어져 있

으며, 국내 발생량은 연간 10만 톤 정도로 추산되고 있으며, 이전의 연구에서 프레싱 스크랩으로부터 회수된 유지를 이용하여 알칼리 촉매를 통한 바이오디젤 제조 연구를 실시한바 있다.³⁾ 알칼리 촉매에 의한 바이오디젤 제조는 촉매 제거와 에너지 과다 소모, 다량의 폐수발생에 의한 2차 환경오염 유발 등이 주된 문제점으로 대두되었다. 또한 알칼리 촉매에 의한 전이에스테르화의 경우 알칼리 금속 촉매의 일부가 바이오디젤에 녹아 수분을 흡수하면, 바이오디젤의 점성이 높아져 연료의 성능이 떨어지는 문제점이 있다.^{3,8)}

지방분해 효소인 리파아제를 이용한 바이오디젤 연구 사례로서는 1996년 Nelson 등이 미생물 유래의 다양한 리파아제를 이용하여 핵산 등의 용매 하에서 77.8%의 바이오디젤이 생성됨을 보고하여 최초로 생물학적인 방법으로 바이오디젤 생산 공정 가능성을 확인하였으며, 최근에는 일본을 중심으로 용매를 전혀 사용하지 않고 *Candida antarctica*, *Pseudomonas cepacia*, *Candida rugosa* 등의 미생물 유래의 다양한 리파아제를 사용하여 90% 이상의 순도로 바이오디젤 생산이 가능함을 보고하였다.^{8,9)} 최근에 Novo Nordisk사에서 유전자조작기법으로 생산된 Novozyme 435 효소는 *C. antarctica*를 아크릴 레진으로 고정화시킨 것으로서 세린, 아스파르타산, 히스티딘 등의 세가지 작용

*Corresponding author

Phone: +82-31-865-9701; Fax: +82-31-865-9703

E-mail: sbsin@kiflt.re.kr

부위를 가지고 있는 3차원 구조를 형성하고 있으며, 효소활성도와 내열성이 우수하고 반복 사용하여도 쉽게 불활성화 되지 않는 특성을 가지고 있어 현재 많은 연구가 이루어지고 있는 상황이다. Kim 등은 Novozyme 435 효소를 이용하여 대두유를 이용한 유화전이에스테르화 공정에서 지방산 메틸에스테르의 수율에 미치는 물비, 유화제 첨가량 및 반응시간의 영향에 대해 규명하였으며,⁹⁾ Watanabe 등은 처음으로 고정 충효를 반응기에서 메탄올을 2단계로 투입하여 식물유의 전이에스테르화 공정을 수행하였다.¹⁰⁾

본 연구에서는 현재 전량 폐기 처분되고 있는 피혁 제조 공정 중 발생하는 프레스 스크랩으로부터 회수된 폐유지를 이용하여 전이에스테르화하는데 있어서 다양한 기원을 가지고 있는 고정화된 리파아제와 1, 2차 알콜을 이용하여 효소 촉매의 불활성화를 억제시키고 알칼리 촉매공정의 문제점을 극복함으로써 에너지원인 바이오디젤 원료로 이용 가능한 제조방법을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료. 실험에 사용된 지방분해 효소인 리파아제는 *Candida antarctica* 기원의 Novozyme 435를 Novo Nodisk사로부터 입수하였고 *Pseudomonas fluorescens*(Lipase AK), *Pseudomonas cepacia*(Lipase PS), *Mucor javanicus*(Lipase M)는 Amano Pharmaceutical Company로부터 입수하였다. 유지는 태성(주)에서 입수한 프레스 스크랩을 단백질 분해효소인 프로테아제를 이용하여 단백질을 분리하여 회수한 후, 알칼리로 전처리된 돈지를 이용하였으며,^{11,12)} 돈지의 지방산 함량은 Table 1에 나타내었다. 그 외 시약은 시판 특급시약을 사용하였다.

유지의 지방산 조성분석. 알칼리로 전처리된 돈지의 지방산 구성 성분을 조사하기 위하여 바이오 디젤 제조 시 유지 지방산 조성으로 일반적인 포화 지방산인 라우린산, 아카디드산, 미리스틴산, 팔미트산, 스테아르산 불포화 지방산인 올레산, 리놀산, 리놀렌산을 GC를 이용하여 분석하였다. 시료 약 200 mg를 정확하게 칭량하여 *n*-heptane 0.1 ml, 2 N methanolic KOH가 들어 있는 원심분리기용 바이알 병에 넣은 후 바이알 병을 닫고 30초 동안 원심분리기로 분리하여 상층액을 버리고 *n*-heptane 2 ml를 희석하였다. 표준 용액과 희석된 시료를 1 µl 주

입한 후 220°C에서 15 min 동안 유지하였다. Gas chromatography는 Hewlett Packard 6890Series를 사용하였으며, column은 HP-INNOWAX(30 m×0.32 mm×0.5 µm, Agilent Technologies, USA), Split mode injector는 100:1의 Split ratio, 감지기는 flame ionization detector(FID)를 사용하였다. 그리고 Carrier gas는 질소(1 ml/min)를 사용하였다. 각각의 표준물질들은 농도별로 표준곡선을 작성하였다.¹²⁾

지방산 메틸에스테르 함량 분석. 원료유지로부터 전이에스테르화 반응을 수행한 후 얻은 생산물 중의 지방산 메틸에스테르의 함량은 표준방법인 “지방 및 오일 유도체-지방산 메틸에스테르(FAME)-에스테르 및 리놀렌산 메틸에스테르 함량 분석 방법(KS M 2413: 2004)”에 의하여 분석하였다.

시험방법의 원리는 KS H ISO 5508에 의한 내부표정(Methyl heptadecanoate)에 따라 가스 크로마토그래피를 사용하여 시료에 존재하는 지방산 메틸에스테르의 % 함량을 측정하였다. 유지와 메탄올을 효소 촉매로 전이에스테르화한 후 효소를 여과하여 반응을 정지시킨 시료를 진공 증류하여 미반응 methanol을 제거하고 클로로포름과 노르말 헥산의 혼합용매로 추출한 다음 원심분리하면 글리세린이 분리된다. 용매 추출한 상등액 1 ml를 취하여 60°C에서 클로로포름과 헥산을 진공 증류한다.¹³⁾

Gas chromatography는 Hewlett Packard 6890Series를 사용하였으며, column은 HP-INNOWAX(30 m×0.32 mm×0.5 µm, Agilent Technologies, USA), oven temp. 210°C, injector temp. 250°C, detector temp. 250°C, 그리고 carrier gas로는 고순도 헬륨을 사용하였다. detector는 FID(Flame Ionization Detector)를 사용하였다. 분석용 시료 준비는 10 ml 바이알에 시료 약 250 mg를 정확히 무게를 단 후, 피펫을 이용하여 메틸 헵타데카노이트 용액 5 ml를 넣어 용해한 후 가스크로마토그래피를 사용하여 분석하였다. 에스테르 함량 측정 에스테르 함량(wt.%)은 다음 식으로 계산하였다.

$$C = \frac{(\Sigma A) - A_{EI}}{A_{EI}} \times \frac{C_{EI} \times V_{EI}}{m} \times 100\%$$

ΣA: C₁₄의 메틸에스테르부터 C₂₄까지의 메틸에스테르까지의 피크 전체면적

A_{EI}: 메틸 헵타데카노이트에 해당하는 피크 면적

C_{EI}: 사용한 메틸 헵타데카노이트 용액의 농도

V_{EI}: 사용한 메틸 헵타데카노이트 용액의 부피(ml)

m: 시료의 무게(mg)

Table 1. Fatty acid composition of lard oil

Division	Composition of fatty acid ¹⁾	Content (wt.%)
Lard oil after alkali treatment	C16:0	21.99
	C16:1	3.43
	C18:0	8.99
	C18:1	49.52
	C18:2	13.39
	C18:3	0.86
	C20:0	0.92

¹⁾C_{16:0}: palmitic acid, C_{16:1}: palmitoleic acid, C_{18:0}: stearic acid, C_{18:1}: oleic acid, C_{18:2}: linoleic acid, C_{18:3}: linolen acid, C_{20:0}: arachidic acid

효소를 이용한 유지의 에스테르화 반응. 알칼리로 전처리된 유지(30 g, 33.9 mmol)와 효소, 알콜을 온도계와 냉각기가 장착된 삼구 플라스크 100 ml/속에 넣은 후 반응온도 25~75°C에서 25시간 동안 반응하였다. 알콜 투입방법으로는 유지 대비 6몰의 methanol을 사용함에 있어 6시간 동안 동일한 양으로 분할하여 1~6단계별 투입하였다. 지방분해 효소인 리파아제는 Novozyme 435, Lipase AK, Lipase PS, Lipase M을 사용하였으며, 각각의 고정화된 효소는 Lowry 방법을 이용한 분석을 통해 함유되어 있는 리파아제의 양을 동일하게 한 후 원료 대비 0~12% 투입하였다.

점도 분석법. 원료유지로부터 전이에스테르화 반응을 수행한 후 효소를 여과하여 반응을 정지시킨 시료는 진공 증류하여 미반응 methanol을 제거한 후 클로로포름과 노르말 헥산의 용매로 추출한 다음 원심분리하면 글리세린이 분리된다. 용매 추출한 상등액을 취하여 60°C에서 클로로포름과 헥산을 진공 증류한 시료를 BROOKFIELD viscometer DV-II를 사용하여 상온에서 spindle number LV-1, rpm 60에서 점도를 측정하였다. 점도계의 상태는 점도 표준물질(Fluid 50, BROOKFIELD viscosity standard, Brookfield engineering laboratories, Inc., MA, USA)를 사용하여 교정하였다.

결과 및 고찰

Primary alcohols을 이용한 에스테르화 반응

반응온도에 따른 전환율. 일반적인 효소 촉매반응에서의 반응속도는 일정 한계까지는 온도에 따라 증가하지만, 특정 온도 이상이 되면 단백질로 이루어진 효소가 열에 변성되어 온도가 증가하여도 효소의 활성도는 증가하지 않고 오히려 감소한다.¹³⁾ 본 연구에서는 반응온도가 전환율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험을 실시한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Novozyme 435를 사용한 경우 반응온도 45°C에서 전환율이 극대점을 나타내었으며, 이때의 반응율은 68%였다. 하지만, 반응온도 65°C 이상에서는 전환율이 점차적으로 감소되는 것으로 보아 특정 온도 이상에서는 열에 의한 효소의 활성이 저하됨을 알 수 있었다. 그 이외의 Lipase AK, Lipase PS 등을 사용한 경우에도 유사한 결과를 얻을 수 있었으나 전환율 11% 이하의 낮은 결과를 나타내었다.

알콜의 단계별 투입 횟수에 따른 전환율. 효소 촉매의 경우가 가장 큰 문제점은 알콜에 의한 효소의 불활성이며 과량의 methanol이 투입될 경우 전이에스테르화 반응이 정지된다. 효소 촉매를 이용한 전이에스테르화 공정에서의 알콜 몰비는 이론당량 몰비 1:3 이상 되어야 하지만 반응초기에는 1:1.5 이하

로 유지해야 methanol에 의한 효소의 불활성화를 막을 수 있는 것으로 보고되고 있다.^{13,14)}

본 연구에서는 유지 대비 6몰의 methanol을 사용함에 있어 1~6몰씩 동일한 양으로 분할하여 6시간동안 단계별 투입 횟수에 따라 전환율에 미치는 영향을 검토하고자 하였다. 실험에 사용한 효소는 Novozyme 435를 사용하였으며, 실험 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 실험 결과 초기 효소의 불활성화를 막기 위해서는 메탄올을 1.5몰씩 4단계에 걸쳐 투입하는 것이 가장 높은 전환율을 나타내었으며, 1.5몰 미만의 methanol을 투입하였을 경우에는 오히려 전환율이 낮아지는 경향을 나타내었다. 또한 투입 단계를 증가시킬 경우 점도는 전환율과 반비례하여 감소하는 경향을 나타내었으며, 4단계를 초과하여 메탄올을 투입할 경우는 투입 시간의 단축으로 인해 오히려 전환율이 낮아지고 점도가 증가되는 경향을 나타내었다. 효소를 이용한 전이에스테르화 반응에서 가장 중요한 변수인 methanol은 유지대비 1.5 몰의 단계적 투입 및 투입 시 1시간 30분 내의 간격을 두고 투입하여야 기질내의 일정 농도 이상에서 효소 활성도를 떨어뜨리는 저해효과를 막을 수 있음을 확인하였다.

효소의 함량이 전환율에 미치는 영향. 본 연구에서는 촉매로 이용되는 효소의 사용량이 전환율에 미치는 영향을 검토하고자 실험을 실시하였다. methanol은 유지와 메탄올 몰비 1:6으로 하여 1시간 30분 마다 1.5몰씩 4단계로 투입한 실험 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 효소 활성화의 최적 온도 45°C에서 효소 사용량을 0~12%까지 변량시켜 실험한 결과 효소량이 증대될수록 전환율이 증대되는 경향을 나타내었으며, Novozyme 435를 사용한 경우 10%에서 최대 전환율 82.2%를 나타내었다. 그 이외의 Lipase AK, Lipase PS를 사용한 경우 10.0%, 15.0% 이하의 전환율을 나타내었으며, 더 이상의 효소 함량 증대로 인한 전환율 증가는 기대할 수 없었다.

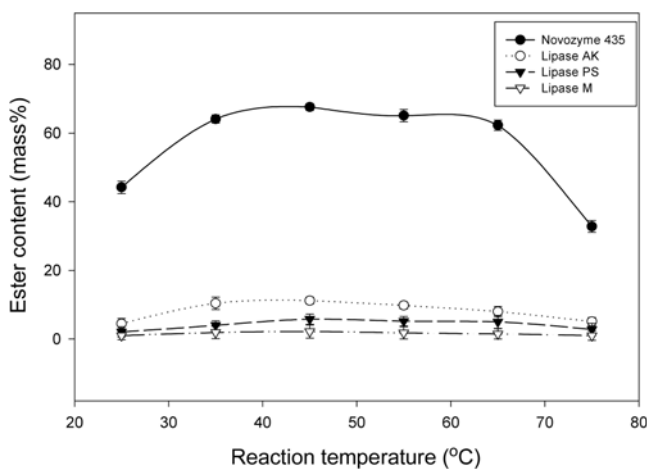


Fig. 1. Difference of ester content by immobilized lipase type. Alcohol injection method: 1 mole of methanol was injected by 6 times, Reaction time: 25hrs, Lipase: ● Novozyme 435, ○ Lipase AK, ▼ Lipase PS, ▽ Lipase M, Lipase content: 10wt.%.

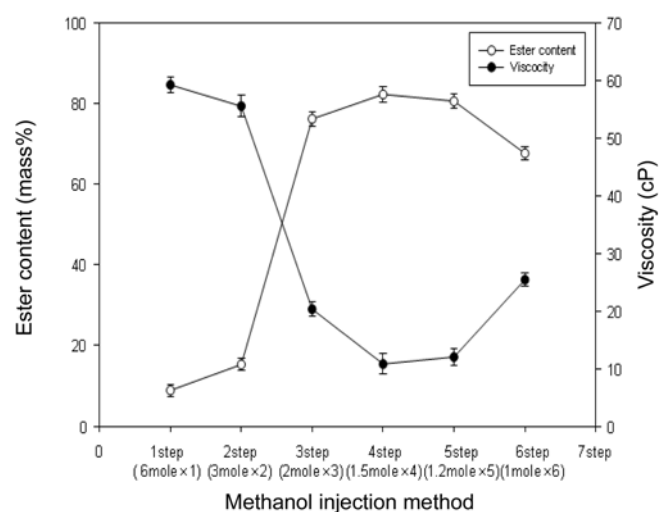


Fig. 2. Effect of methanol injection method according to lipase-catalyzed transesterification. 1 step: 6 mole of methanol by 1 time, 2 step: 3 mole of methanol by 2 times, 3 step: 2 mole of methanol by 3 times, 4step: 1.5 mole of methanol by 4 times, 5step: 1.2 mole of methanol by 5 times, 6step: 1.0 mole of methanol by 6 times, Reaction temp.: 45°C, Reaction time: 25 hrs, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%, ○ Ester content, ● Viscosity.

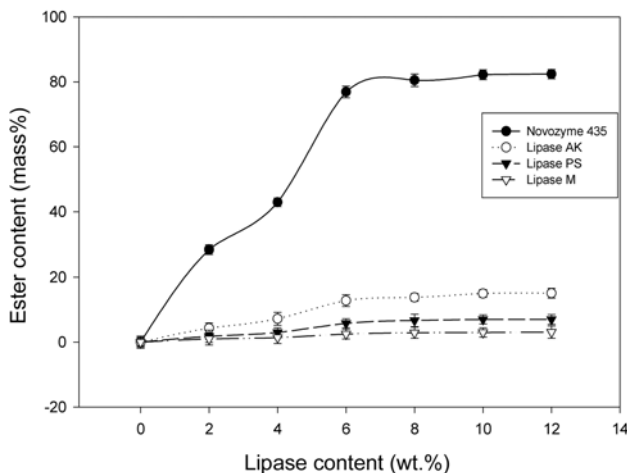


Fig. 3. Effect of lipase content according to lipase-catalyzed transesterification. Alcohol injection method: 1.5mole of methanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Reaction time: 25hrs, Lipase (activity): ● Novozyme 435 (10,000 U/g), ○ Lipase AK (25,000 U/g), ▼ LipasePS: (30,000 U/g), ▽Lipase M (15,000 U/g), Lipase content: 10wt.%.

Secondary alcohols을 이용한 에스테르화 반응

Lipase 형태에 따른 전환율. 본 연구에서 알콜로는 유지와 혼합성이 우수한 2-propanol과 2-butanol을 이용하였으며, propyl 및 butyl 에스테르 전환율을 Fig. 4, 5에 나타내었다.

실험 결과 Novozyme 435는 다른 종류의 효소에 비해 가장 높은 전환율을 나타내었으며, 이 반응은 2-butanol보다는 2-propanol에서 더 빠르게 진행되었다. 고정화된 Lipase AK, Lipase PS를 이용할 경우에는 25시간 반응 후에도 2-propanol 전환율 약 20%, 2-butanol 전환율 20~32%로서 매우 낮았으며, Lipase M의 경우 전환율을 나타내지 않았다. 따라서 본 연구에서는 *C. antarctica*을 기원으로하는 Novozyme 435를 최적 효소 촉매로 선정하였다.

알콜 투입 방법에 따른 전환율. Primary 알콜 사용과 마찬가지로 과량의 알콜 투입시 알콜에 의한 효소의 불활성화로 인하여 전이에스테르 반응은 정지된다. 본 연구에서는 Secondary 알콜을 투입함에 있어 일괄 투입법과 분할투입법(4회)을 통해 전환율에 미치는 영향을 알아보고자 실험을 실시하였다. Secondary 알콜로서는 2-propanol과 2-butanol을 이용하였으며, 리파제로는 형태별 실험결과 가장 전환율이 우수한 것으로 나타난 Novozyme 435를 이용하였다. 분할 투입 방법은 1시간 30분에 걸쳐 1.5몰씩 4회로 분할하여 투입하였으며, 유지와 알콜의 몰비는 1:6몰로 하였다. Table 2의 결과에서 Primary 알콜때와 마찬가지로 일괄투입법에 의한 방법보다는 분할투입법으로 할 경우에 전환율이 높게 나타남을 확인할 수 있었다. 특히 2-butanol을 알콜로 사용할 경우에는 단일 투입에 의한 전환율이 40% 정도인데 반해, 분할투입에 의한 에스테르화의 경우 전환율이 85%로 큰 차이점을 발견할 수 있었다.

반응 온도에 따른 전환율. 고정화된 Novozyme 435를 촉매로 사용하여 25°C에서 75°C까지 반응온도를 변화시켜 실험을 진행하였으며, 실험 결과를 Fig. 6, 7에 나타내었다. 실험 결과 propyl 에스테르 전환율은 45°C에서 가장 높게 나타남을 확인

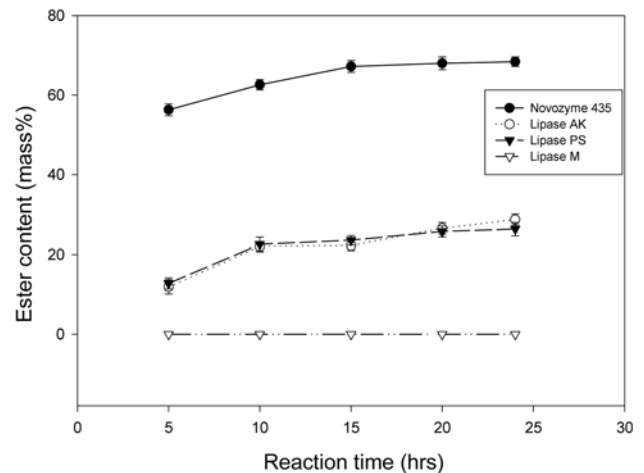


Fig. 4. Difference of ester content by immobilized lipase type. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-propanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Lipase: ● Novozyme 435, ○ Lipase AK, ▼ Lipase PS, ▽ Lipase M, Lipase content: 10wt.%.

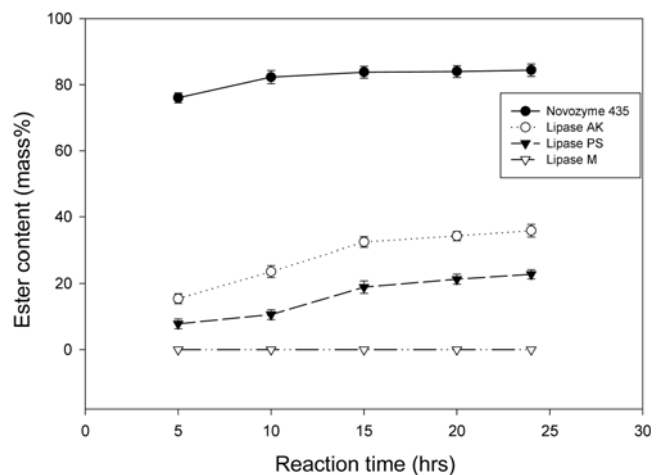


Fig. 5. Difference of ester content by immobilized lipase type. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-butanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Lipase: ● Novozyme 435, ○ Lipase AK, ▼ Lipase PS, ▽ Lipase M, Lipase content: 10wt.%.

Table 2. Effect of methanol injection method according to lipase-catalyzed transesterification

Alcohol injection method	Secondary Alcohol	Ester content (mass%)
1step ¹⁾	2-propanol	65.2
	2-butanol	41.1
4step ²⁾	2-propanol	68.4
	2-butanol	84.5

¹⁾1step: 6 mole of alcohol was injected by 1 time

²⁾4step: 1.5 mole of alcohol was injected by 4 times

하였으며, 35°C에서는 전환율이 매우 크게 감소하였다. butyl 에스테르 전환율도 45°C에서 가장 높게 나타났으며, 반응시간 10시간 이후에서의 전환율은 거의 동일 하였다. 75°C에서의 전환율은 상대적으로 낮게 관찰되었다.

수분 함유량에 따른 전환율. Non-aqueous 매질 내에서의 효

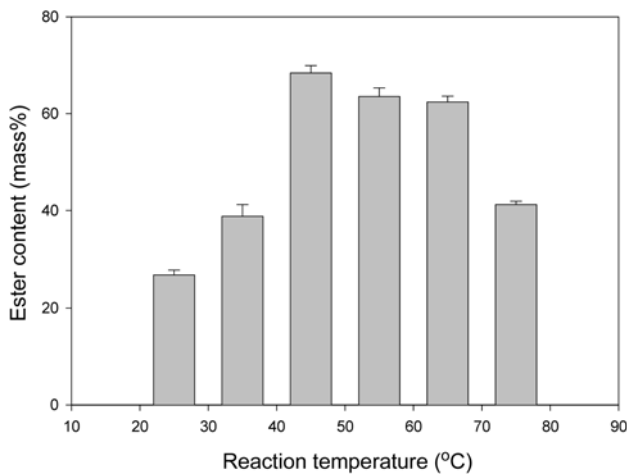


Fig. 6. Effect of reaction temperature according to propyl esterification. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-propanol was injected by 4 times, Reaction time: 25 hrs, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%.

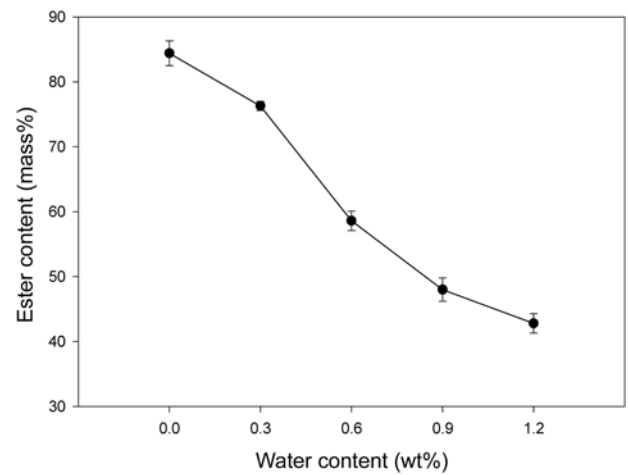


Fig. 8. Effect of water content according to butyl esterification. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-butanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Reaction time: 25 hrs, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%.

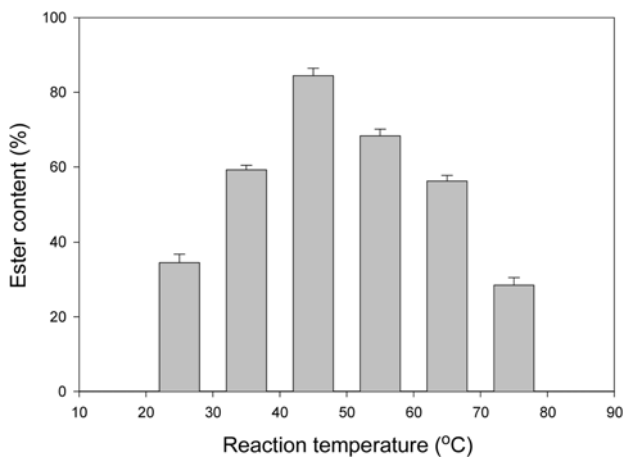


Fig. 7. Effect of reaction temperature according to butyl esterification. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-butanol was injected by 4 times, Reaction time: 25 hrs, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%.

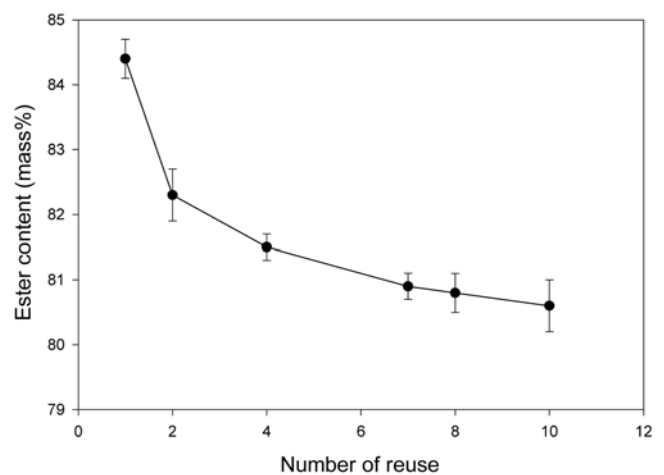


Fig. 9. Difference of ester content by reuse of immobilized lipase. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-butanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Reaction time: 12 hrs, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%.

소 활성도는 매질 내에 함유된 수분의 함유량에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 기질로서 돈지와 2-butanol, 효소로서 고정화된 Novozyme 435의 반응 혼합물에 소량의 수분을 첨가함으로써 수분 함유량이 효소 활성에 미치는 영향을 검토하였다. 이 반응은 총 반응 혼합물 대비 0~1.2wt.%의 범위에서 수분을 첨가하였고, 반응 온도는 45°C로 하였으며, 효소 활성도를 감안하여 전환율을 12시간에서 측정하였다. 실험 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 실험 결과 수분 함유량이 증가할수록 전환율이 저하됨을 확인하였으며,¹⁴⁾ 수분 함량 1.2wt.%에서의 전환율은 수분이 없는 상태에 비해 약 40%나 낮게 나타났다. 따라서 프레싱으로부터 회수된 유지를 정제 공정을 거쳐 수분을 완벽하게 제거하는 것이 전환율을 높이는데 매우 중요한 인자임을 확인하였다.

고정화 효소 반복 사용이 전환율에 미치는 영향. 효소를 고정화한 가장 큰 이유는 값비싼 효소를 반복적으로 사용하기 위

해서이다. 본 연구에서는 고정화된 효소를 반복적으로 사용할 때 전환율에 미치는 영향을 Fig. 9에 나타내었으며 알콜은 2-butanol을 이용하였다. 전환율은 2회 사용할 때 약간 감소하였으나 10회 반복 사용한 경우에도 전환율이 81% 정도로 유지되는 걸로 보아 재사용이 가능할 것으로 판단되었다.

반응이 종결된 후 decantation 공정에 의해 분리할 수 있으며, 더 이상의 특별한 분리 방법은 필요치 않았다.

돈지 및 유지 전환율 비교. 돈지와 유지 사이의 전이에스테르의 차이점을 발견하기 위해서 알콜로서 2-butanol을 이용하였으며, 촉매로는 고정화된 Novozyme 435를 이용하였다. 돈지 및 유지의 반응 결과를 비교하여 Fig. 10에 나타내었다. 실험 결과 84% 이상의 전환율을 나타내었으며, 돈지를 이용한 제조 조건 최적화 실험을 통한 결과가 유지에서도 동일한 결과를 얻을 수 있음을 확인하였다.

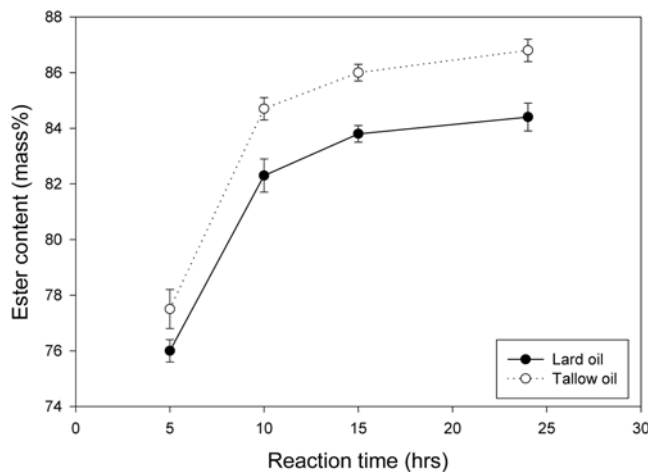


Fig. 10. Comparison of lard and tallow oil in butyl esterification. Alcohol injection method: 1.5 mole of 2-butanol was injected by 4 times, Reaction temp.: 45°C, Lipase: Novozyme 435, Lipase content: 10wt.%, ● lard oil, ○ tallow oil.

초 록

피혁 제조 공정 중 발생하는 프레싱 스크랩으로부터 회수된 동물성 유지를 이용하여 lipase-catalyst 전이에스테르화 실험을 실시하였다. 실험 결과, 반응온도 45°C에서 전환율이 극대점을 나타내었으며, 반응온도 45°C 이상에서는 전환율이 점차적으로 감소되었다. 초기 효소의 불활성화를 막기 위해서는 1.5몰씩 4단계에 걸쳐 투입하는 것이 가장 높은 전환율을 나타내었으며, 1.5몰 미만의 methanol로 투입 단계를 4단계 초과하여 사용하였을 경우에는 오히려 전환율이 낮아지는 경향을 나타내었다. 종류가 다른 4가지의 리파제를 사용하여 돈지의 전환율에 미치는 영향을 실험한 결과 *C. antarctica*를 기원으로 하는 Novozyme 435를 사용한 경우 82.2%의 전환율을 나타내어 가장 효과적이었다. 수분 함유량이 증가할수록 전환율이 저하됨을 확인하였다. 1.2wt.%에서의 전환율은 수분이 없는 상태에 비해 약 40%나 낮게 나타나 프레싱 스크랩으로부터 회수된 유지를 정제 공정을 거쳐 수분을 완벽하게 제거하는 것이 전환율을 높이는데 매우 중요한 인자임을 확인하였다. 고정화된 효소를 반복 사용 실험에서는 2회 사용할 때 약간 전환율이 감소하였으나 계속적으로 반복 사용할 때에는 전환율의 감소율이 둔화되었다. 전이에스테르화 반응을 우지에도 적용한 결과 전환율에서 돈지 84%보다 높은 88%를 나타내었다. 이 반응에 의해 생성된 지방산 에스테르는 SO_x를 발생시키지 않고, 매연 발생량이 최소화되는 바이오디젤로서 사용될 수 있을 것으로 사료되었다.

Key words: 프레싱스크랩, 효소 촉매, 전이에스테르, 바이오디젤, 전환율

참고문헌

1. Sulaiman, A. Z. (2005) Production of Biodiesel by Lipase-Catalyzed Transesterification of Vegetable Oils: A Kinetics Study. *Biotechnol. Prog.* **21**, 1442-1448.
2. Thomas, A., William, N. (1996) Lipase-Catalyzed Production of Biodiesel. *JAOCs*. **73**, 1191-1195.
3. Shin, J. S., Min, B. W. and Yang, S. H. (2005) A Study on the Biodiesel Production Technology Using Lard Oil. *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **23**, 19-25.
4. Kumari, V., Shah, S. and Munishwar, N. (2007) Preparation of Biodiesel by Lipase-Catalyzed Transesterification of High Free Fatty Acid Containing Oil from *Madhuca indica*. *Energy & Fuels*. **21**, 368-372.
5. Sjeweta, S. (2007) Lipase catalyzed preparation of biodiesel from *Jatropha* Oil in a Solvent Free System. *Process Biochemistry*. **42**, 409-414.
6. Iso, M., Chen, B., Eguchi, M., Kubo, T. and Shrestha, S. (2001) Production of Biodiesel Fuel from Triglycerides and Alcohol Using Immobilized Lipase. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **16**, 53-58.
7. Yomi, W., Praphan, P. and Toshihiro N. (2007) Conversion of Acid Oil By-produced in Vegetable Oil Refining to Biodiesel Fuel by Immobilized *Candida Antarctica* Lipase. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **44**, 99-105.
8. Sulaiman, A. Z., Fan, W. L. and Lim, S. J. (2007) Proposed Kinetic Mechanism of the Production of Biodiesel from Palm Oil Using Lipase. *Process Biochemistry*. **42**, 951-960.
9. Hyu, Y. J., Kim, H. S. (2005) Bio-diesel of Vegetable Oils by Lipase Catalyzed Trans-esterification into Continuous Process. *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **22**, 106-115.
10. Watanabe, Y. (2000) Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida Antarctica* Lipase. *JAOCs*. **77**, 355-360.
11. Shin, J. S., Min, B. W. and Yang, S. H. (2007) The influence of the way of fat recovery from fleshing scrap on the acid value and fatty acid composition. *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **24**, 347-353.
12. Shin, J. S., Min, B. W. and Yang, S. H. (2008) A Study on the Influence of Pretreatment of Animal Fat. Recovered from Fleshing Scrap on the Eliminating FFA and Fatty Acid Composition. *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **25**, 58-64.
13. Kim, H. S. (2003) Enzyme-catalyzed Transesterification of Soybean Oil into Biodiesel. *J. Kor. Oil Chemists' Soc.* **20**, 251-258.
14. Sulainman, A. Z., Kishnu, V. J., Smita, K. and Chan, W. H. (2006) The Effect of Fatty Acid Concentration and Water Content on the Production of Biodiesel by Lipase. *J. Biochemical Engineering*. **30**, 212-230.