

# 액체 이산화탄소 조건에서의 캐놀라 오일 유래의 효소적 바이오디젤 생산

이명구<sup>1,2</sup> · 박철환<sup>1\*</sup> · 조재훈<sup>2</sup> · 이준학<sup>2</sup> · 이도훈<sup>2</sup> · 김상용<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>광운대학교 화학공학과, <sup>2</sup>한국생산기술연구원 그린공정연구부

## Enzymatic Biodiesel Synthesis from Canola Oil in Liquid Carbon Dioxide

Myunggu Lee<sup>1,2</sup>, Chulhwan Park<sup>1\*</sup>, Jaehoon Cho<sup>2</sup>, Junhak Lee<sup>2</sup>, Dohoon Lee<sup>2</sup>, and Sangyong Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea

<sup>2</sup>Green Engineering Team, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH), Chonan 330-825, Korea

**Abstract** It has been well known that organic solvents like t-butanol and n-hexane can protect lipases from the inhibition by short-chain alcohols in the enzymatic transesterification. However, use of the organic solvents should be minimized considering their negative effects on environment and human health. Therefore, use of the greener solvents has been pursued in various are as including the enzymatic biotransformation. In this study, the liquid carbon dioxide (LCO<sub>2</sub>) was employed as an alternative media for the enzymatic transesterification of canola oil. The conversion in the LCO<sub>2</sub> was comparable with those in organic solvents and the supercritical carbon dioxide, and under optimum conditions, the value reached 99.7%. It is expected that this method can provide a new type of biodiesel production process with higher energy efficiency and lower environmental impact.

**Keywords:** biodiesel, lipases, organic solvent, liquid carbon dioxide, supercritical carbon dioxide

### 서 론

오일가격이 지속적으로 상승하고 연료유 배출가스에 의한 지구 온난화에 대한 관심이 증가하여 화석연료의 대체물질에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 화석연료 대체물질 중 하나인 바이오디젤은 지속가능한 바이오매스 즉, 식물유지나 폐 동· 식물 유지를 이용하여 만들 수 있으며, 경유와 유사한 특성을 지니고 있다. 그래서 경유 사용 장치에 특별한 개조 없이 사용이 가능하고, 기존 인프라를 사용할 수 있으며, 화석연료인 경유 사용시 발생하는 대기오염물질과 온실가스 감소 효과 등의 장점을 가지고 있어 최근 각광을 받고 있다 [1-3].

바이오디젤을 생산하기 위해 주로 산 또는 알칼리 촉매가

사용되어 왔으나, 이러한 화학적 촉매는 반응 후에도 잔류하여 반응 부생성물인 글리세롤의 분리정제가 어렵다. 또한 엔진을 부식시킬 수 있어, 잔류된 촉매를 제거하기 위한 세척 및 건조 공정이 추가적으로 요구되며, 알칼리 촉매를 사용하였을 경우 유지에 함유된 유리 지방산과 반응하여 비누화 생성물과 물을 생성하므로 촉매의 소모량이 크고 수율도 낮다는 단점이 있다 [4-6]. 따라서 화학적 촉매 사용의 단점을 보완하고자 효소를 이용하는 바이오디젤의 제조방법이 연구되고 있다 [3,5]. 그러나 이 방법은 메탄올과 부생성물인 글리세롤이 효소의 저해 요소로 작용하여 반응시 메탄올을 반응계에 단계적으로 투입하거나 t-butanol이나 hexane과 같은 유기용매를 반응용매로 사용하는 방법이 연구되었다. 또한 메탄올의 단계적 투입방법은 대용량 반응기에 적합하지 않으며, 유기용매의 사용은 환경적 측면에서 부적합하다는 단점을 가지고 있다 [7-9].

최근에는 메탄올과 부생성물인 글리세롤에 의해 효소의 활성이 저해되는 것을 방지하기 위하여, 친환경적 유기용매

### \*Corresponding author

Tel: +82-2-940-5173, Fax: +82-2-912-5173

Tel: +82-41-589-8356, Fax: +82-41-589-8580

e-mail: chpark@kw.ac.kr (C. Park), sykim@kitech.re.kr (S. Kim)

로써 초임계 이산화탄소를 적용한 효소적 바이오디젤 생산 방법이 제시되었다. 그러나 초임계 이산화탄소는 유기용매를 대체할 수 있는 친환경 용매이지만 효소를 이용한 바이오디젤 생산시 초임계 이산화탄소 상태에서 오일의 용해도가 높지 않으며 [10], 오일 : 메탄올 (1 : 3) 정량적 몰비량으로 단일 투입시 효소의 활성을 억제하는 단점이 있다. 그래서 기존 제시된 초임계 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산시 효소의 활성을 높이기 위해 메탄올을 단계적으로 첨가하여야 되며, 효소의 활성을 유지하기 위해 짧은 반응시간이 요구된다고 보고하였다 [11].

본 연구에서는 위와 같은 문제점을 해결하기 위해 효소적 바이오 디젤을 생산하는 방법에서 액체 이산화탄소를 반응 용매로 사용하여 메탄올에 의한 효소 활성이 저해되는 것을 방지하고 친환경적이며 에너지 절감효과가 우수한 효소적 바이오디젤 생산 방법을 제시하고자 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 실험재료

리파아제 고정화 효소 novozym 435, lipozyme TL IM, lipozyme RM IM은 Novo Nordisk사의 것을 사용하였다. 바이오디젤 표준품은 Supelco사의 A fatty acid standard Supelco 6 Components F.A.M.E Mix RM-1을 사용하였다. 캐놀라유는 CJ제일제당 (Korea)제를 사용하였다. 메탄올과 기타 유기용매 (t-butanol, acetone, chloroform, hexane, THF, cyclohexane, toluene)는 HPLC급으로 각각 Fisher Scientific사와 J.T Baker사의 것을 사용하였다.

### 실험장치

초임계 재순환 이산화탄소 반응시스템은 무배출 오염제어 및 상용화시 에너지 절감효과를 극대화하기 위해 제작되었다.

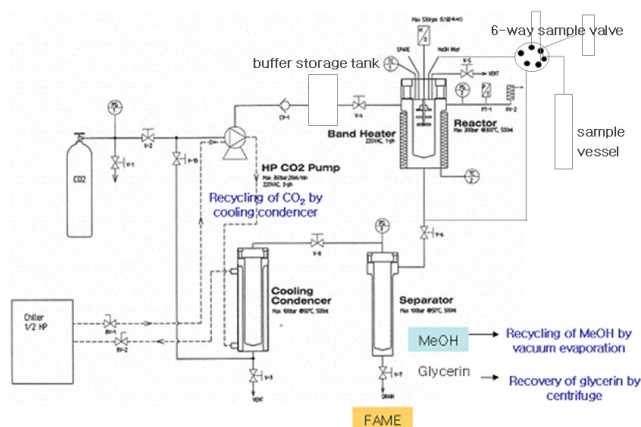


Fig. 1. Schematic diagram of the apparatus for the preparation of biodiesel using liquid and supercritical carbon dioxide.

공정의 냉각을 위한 냉동기, 100 mL의 초고압 반응용기, 이산화탄소의 재사용 및 반응물 분리를 위한 분리기, 분리된 이산화탄소를 액화시킬 수 있는 냉각기, 공정 제어박스 구성되어 있다 (Fig. 1).

### 액체 이산화탄소 상태에서 고효율 리파아제 고정화 효소의 선정

대표적인 상용화 리파아제 고정화 효소 (novozym 435, lipozyme RM IM, lipozyme TL IM) 중 액체 이산화탄소 상태에서 최적의 효율을 보이는 고정화 효소를 선정하기 위해 초임계 이산화탄소 반응장치에서 바이오디젤을 생산하였다. 본 연구에서 사용되는 액체 이산화탄소의 온도와 압력범위는 효소의 활성을 고려하여 Fig. 2와 같이 24~30°C와 63~400 bar 조건에서 실험이 수행되었다. 효소 선정을 위해 캐놀라유 44.43 g (50 mM), 메탄올 4.8 g (150 mM), 각각의 고정화 효소는 캐놀라유 무게 대비 20% (8.8 g)를 반응기에 넣고 캐놀라유와 동일부피의 액체 이산화탄소를 첨가하여 30°C, 100 bar, 300 rpm 조건에서 24시간 동안 반응시켰다.

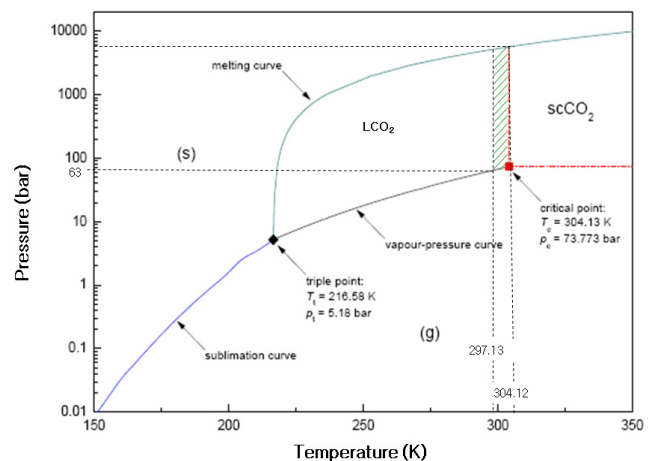


Fig. 2. Phase diagram condition of liquid carbon dioxide in this study.

### 대체 유기용매로서 액체 이산화탄소의 사용

효소를 이용한 바이오디젤 생산시 효소의 활성을 유지하기 위한 종래의 방법인 유기용매를 첨가한 실험과 액체 이산화탄소를 유기용매 대체물로 사용시 경향을 파악하기 위해 각기 다른 용매 (t-butanol, acetone, chloroform, hexane, THF, cyclohexane, toluene, 액체 이산화탄소)를 선정하여 실험하였다. 실험은 캐놀라유 44.43 g (50 mM), 메탄올 4.8 g (150 mM), 고정화 효소 (lipozyme TL IM)는 캐놀라유 무게 대비 5% (2.2 g)를 반응기에 넣고 캐놀라유와 동일부피의 액체 이산화탄소를 첨가하여 30°C, 300 rpm 조건에서 24시간 동안 100 mL baffled flask에서 shaking incubator를 이용하여 상압에서 반응하였다. 단 액체이산화탄소 조건은 100 mL

초임계 재순환 이산화탄소 반응시스템을 이용하여 100 bar 조건에서 수행되었다. 또한 액체 이산화탄소 상태의 반응기 운전 조건은 반응온도 20~30°C에 적합하지만 리파아제의 최적 온도조건은 30~50°C 사이로, 본 실험에서는 30°C, 100 bar 조건에서 실험하였으며, 그 외 유기용매는 30°C 상압 동일 조건에서 실험을 수행하였다.

**액체 이산화탄소와 초임계 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산성 비교**

액체 이산화탄소와 초임계 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산 경향을 파악하기 위해 초임계 장비를 이용하여 실험을 수행하였다. 실험은 상기 표기된 대체유기용매로서 액체 이산화탄소의 실험 조건과 동일하며, 단 액체 이산화탄소의 온도 조건은 30°C, 초임계 이산화탄소는 40°C로 100 bar의 압력 조건에서 수행되었다.

**액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산**

액체 이산화탄소 상태에서 경제성을 고려한 최적화 조건과 고 전환율을 고려한 최적화 조건을 도출하기 위해 캐놀라유 44.43 g (50 mM), 메탄올 4.8 g (150 mM)을 첨가하고 온도, 압력, 효소 첨가량의 최적화 실험을 수행하였다. 도출된 경제성 최적 조건과 고 전환율 최적 조건에서 상기 표기된 액체 이산화탄소 실험방법에 따라 24시간 동안 시간에 따른 바이오디젤의 생산 경향을 파악하였다.

**바이오디젤 (fatty acid methyl ester: FAME) 전환율 측정방법**

바이오디젤 전환율 측정을 위해 2 mL를 채취한 후 원심분리기를 이용하여 2분 동안 4000 rpm 조건에서 효소를 침강시키고 상등액 200 µL를 채취하고, 남아있는 메탄올 제거를 위해 80°C로 가열시켜 전 처리된 시료를 확보하였다. 전 처리된 시료의 250 mg을 10 mL 바이얼에 methyl heptadecanoate 5 mL와 함께 넣어 잘 섞은 후에 GC를 이용하여 측정하였다.

샘플내 지방산 메틸 에스테르 (FAME) 함량 측정을 위해 Agilent gas chromatograph (Model 6890, Agilent)를 이용하였고, 컬럼은 BD-Wax column (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm, HP) 그리고 검출은 flame ionization detector (FID)를 사용하였다.

분석은 다음과 같은 조건에서 수행하였다. Injector 온도는 250°C이고, oven 온도는 50°C부터 200°C까지는 10°C/min로 승온, 230°C까지는 3°C/min로 승온하고 230°C에서는 18분 동안 체류 시간을 주었다. Detector의 온도는 280°C로 설정하였다. Injection volume은 1 µL로 하였고, split ratio는 50:1로 하였다. Carrier gas는 N<sub>2</sub>를 사용하였으며, 유속은 30 cm/sec, air는 450 mL/min 그리고 H<sub>2</sub>는 45 mL/min으로 주입 하였다. Make up flow는 N<sub>2</sub>를 사용하였으며, 유속은 30 mL/min로 하였다.

FAME의 분석을 위하여 한국 표준협회에서 채택한 KSM 2413 (EN 14103) 법에 따라 시험을 수행하였으며, 식 (1)에 따라 FAME 함량을 계산하였다.

$$C = \frac{(\sum A) - A_{EI}}{A_{EI}} \times \frac{C_{EI} \times V_{EI}}{m} \times 100\% \quad (1)$$

C : Ester 함량.

∑A : FAME C140부터 C24 : 1까지의 피크면적의 총합.

A<sub>EI</sub> : Methyl heptadecanoate의 피크의 면적.

C<sub>EI</sub> : Methyl heptadecanoate의 농도 (mg/L).

V<sub>EI</sub> : Methyl heptadecanoate의 투입 부피 (mL).

m : 샘플의 질량 (mg).

**결과 및 고찰**

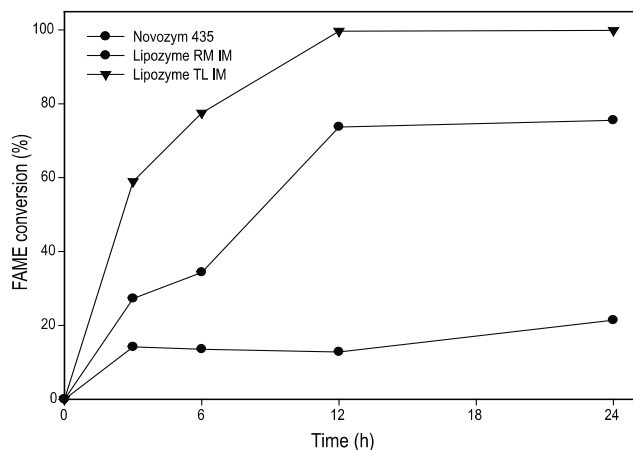
**액체 이산화탄소 상태에서 고효율 고정화 효소의 선정**

실험에 사용된 각각의 고정화 효소는 각기 다른 특성을 가지고 있다. Novozym 435 (from *Candida antarctica*)는 담체로서 다공성 아크릴 레진을 이용하고 입자 사이즈가 0.3~0.9 mm이며 위치 선택적 특이성이 없으며 정제된 고가의 고정화 효소이다. 그리고 lipozyme RM IM (from *Rhizomucrommiehei*)은 담체로서 다공성 음이온 교환 레진을 이용하고 입자 사이즈가 0.2~0.6 mm이며 1,3-위치 선택적 특이성을 가진 저가 고정화 효소이다. 마지막으로 lipozyme TL IM (from *Thermomyces lanuginosus*)은 담체로서 미립자 실리카겔을 이용하며 입자 사이즈가 0.3~1.0 mm이고 1,3-위치 선택적 특이성을 가진 저가 고정화 효소이다 (Table 1). 각기 다른 특징을 가진 3가지 상용화된 리파아제 고정화 효소를 대상으로 액체 이산화탄소 상태에서 적합한 효소를

**Table 1.** Comparison of conversion at 24 h, 30°C, 300 rpm and 100 bar of transesterification reaction by immobilized enzymes under liquid carbon dioxide

	Immobilized enzymes					Conversion (%)
	Organism	Particle size (mm)	Carrier	Specificity	Grade	
Novozym 435	<i>Candida antarctica</i>	0.3-0.9	Macroporous acrylic resin	Non-specific	Technical grade	21.4
Lipozyme RM IM	<i>Rhizomucor miehei</i>	0.2-0.6	Macroporous anion exchange resin	1,3-specific	Food grade	75.57
Lipozyme TL IM	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	0.3-1.0	Granulated silica	1,3-specific	Food grade	99.7

선정하기 위해 실험한 결과 novozym 435의 최종 바이오디젤 전환율은 21.4%, lipozyme RM IM은 75.5%, lipozyme TL IM은 99.7%의 전환율을 보였다 (Table 1). 정밀화학 제품 생산용으로 널리 사용되고 있는 위치 선택적 특이성이 없는 novozym 435는 액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산을 위한 효소로서 적합하지 않았으며 1,3-위치 선택적 특이성을 가진 리파아제 효소가 적합함을 확인 할 수 있었다. 특히 사용된 1,3-위치 선택적 특이성을 가진 lipozyme TL IM이 액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산에 최적의 효소임을 확인하였다 (Fig. 3). 위 결과는 최근 초임계 이산화탄소 상태에서 효소적 바이오디젤 생산시 Novozym 435 (from *Candida antarctica*) 보다 제작된 고정화 효소 (from *C. rugosa* and *R. oryzae*)가 보다 우수하다고 보고된 연구 결과와 동일한 경향을 보임을 확인할 수 있다 [11].



**Fig. 3.** Comparison of FAME conversion by different immobilized enzymes under liquid carbon dioxide. Reaction condition; 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 20% (wt) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 30°C, pressure at 100 bar and agitation speed at 300 rpm.

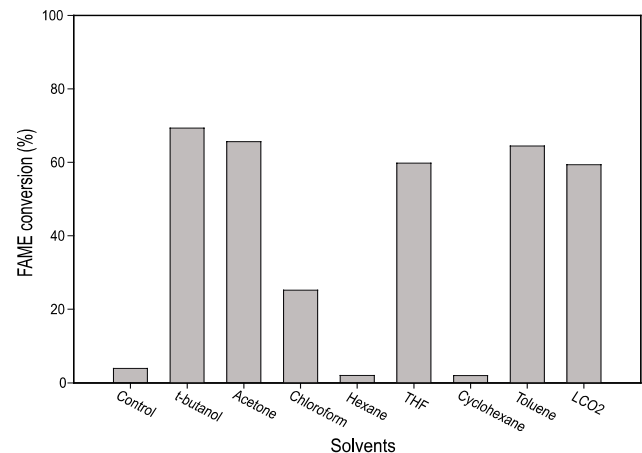
### 대체 유기용매로서 액체 이산화탄소의 고찰

Nelson 등 [12]은 유기용매 (n-hexane) 상태에서 대두유, 캐놀라유를 이용한 효소적 (lipozyme IM60) 바이오디젤 생산 연구는 n-hexane 미첨가시 19.4% 전환율을 보이던 것이 첨가하여 반응시 98.5%의 높은 전환율을 얻을 수 있다고 보고하였다. Soumanou 등 [13]은 면실유를 이용한 효소적 (lipozyme TL) 바이오디젤 생산 연구에서 유기용매 (n-hexane) 미첨가시 10% 전환율을 보이던 것이 70%까지 전환율이 향상됨을 보고하였다. Li 등 [14]은 캐놀라유를 이용한 효소적 (lipozyme TL) 바이오디젤 생산 연구에서 유기용매 (t-butanol) 미첨가시 10% 전환율을 보이던 것이 75%까지 전환율이 향상됨을 보고하였다.

메탄올의 효소 저해 방지를 위해 사용되는 유기용매를 대체 할 수 있는 친환경적인 용매로서 액체 이산화탄소의 가능성을 확인하기 위한 실험 결과 액체 이산화탄소 상태에서 최종

바이오디젤 전환율은 59.3%를 보였다. 그리고 각각의 서로 다른 유기용매 (t-butanol, acetone, chloroform, hexane, THF, cyclohexane, toluene) 상태에서는 각각 69.3%, 65.6%, 25.2%, 2.0%, 59.8%, 2.0%, 64.4%를 보였다 (Fig 4).

본 결과는 유기용매를 이용한 바이오디젤의 생산성과 액체 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산성을 비교하여 유기용매 조건과 같이 메탄올에 의한 효소저해를 방지하는 역할을 액체 이산화탄소가 수행할 수 있음을 보여주며, 결과적으로 액체 이산화탄소가 친환경적인 유기용매의 대체 물질로서 적합함을 확인할 수 있었다 [13-17].



**Fig. 4.** Comparison of FAME conversion by different solvents under solvents. Reaction condition: 50 mM of canola oil, solvent 50% (v/v) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 30°C, and agitation speed at 300 rpm. Liquid carbon dioxide (LCO<sub>2</sub>) pressure is 100 bar.

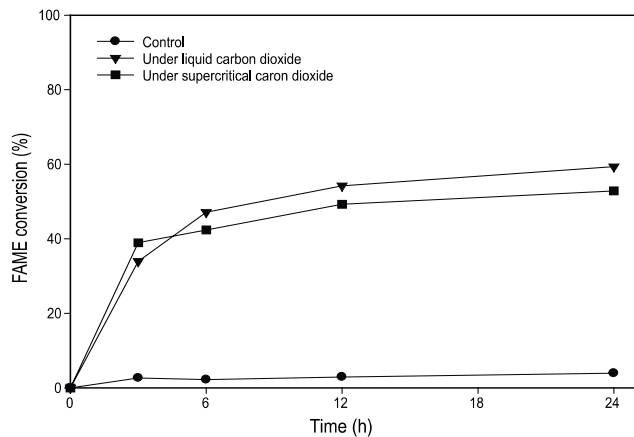
### 액체 이산화탄소와 초임계 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산성 비교

초임계 이산화탄소는 대체 반응용매로써 비독성이며, 생성물의 분리가 용이한 장점을 보여 음식, 의약품 및 기타 관련 산업에서 최근 많은 주목을 받고 있다 [15-17]. 이러한 장점을 가진 초임계 이산화탄소를 효소적 바이오디젤 생산에 활용하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. Madras 등 [18]은 해바라기유로부터 효소적 (novozym 435) 바이오디젤 생산시 초임계 이산화탄소 조건에서 7시간 반응하여 23%의 전환율을 달성하였다. Varma 등 [19]은 castor linseed oil로부터 효소적 (novozym 435) 바이오디젤 생산시 초임계 이산화탄소 조건에서 7시간 반응하여 45%, 자트로파유로부터 초임계이산화탄소 조건에서 8시간 반응하여 70% 이상의 전환율을 달성한 결과를 보고하였다. 그러나 아직까지 액체 이산화탄소 상태에서 효소적 바이오디젤 생산에 대한 연구는 거의 없는 상태이다.

액체 이산화탄소와 초임계 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산성 비교 결과 액체 이산화탄소 상태에서는 3시간 경과 후 33.9%, 최종 59.3%의 전환율을 보였고 초임계 이

산화탄소 상태에서 3시간 경과 후 38.9%, 최종 52.8%의 전환율을 보였다 (Fig. 5).

본 실험결과는 최적화되지 않은 동일 조건에서 바이오디젤의 생산 경향을 파악하기 위한 실험결과로서 각각 약 60%의 높은 전환율을 보였다. 또한 최근 바이오디젤의 생산 시 친환경 용매로서 주목을 받고 있는 초임계 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산과 유사한 결과를 나타냄으로써 액체 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산방법이 초임계 이산화탄소를 이용한 방법보다 에너지절약형 친환경 바이오디젤 생산에 적합함을 확인할 수 있었다 [11,15-17].

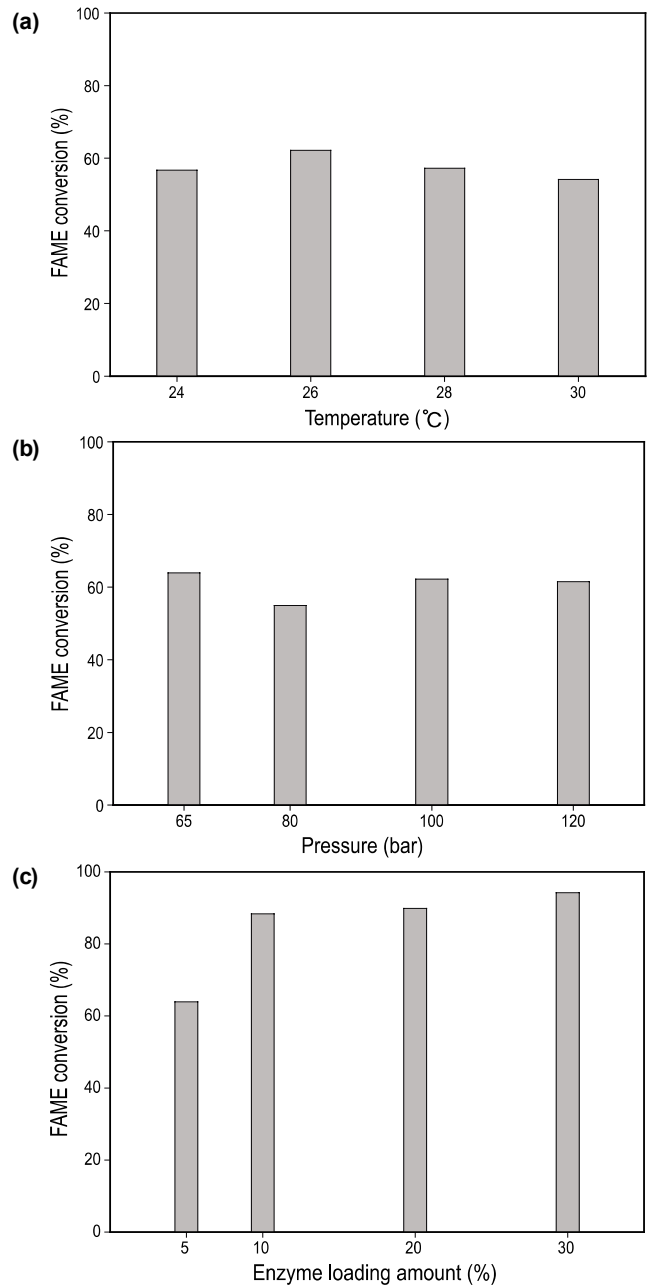


**Fig. 5.** Biodiesel production with the reaction time under liquid and super critical carbon dioxide. Reaction condition; 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 5% (wt) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 30°C and 40°C (former: liquid carbon dioxide, after: supercritical carbon dioxide), pressure at 100 bar and agitation speed at 300 rpm.

### 액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산

액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산시 경제성을 고려한 최적조건은 lipozyme TL IM이 캐놀라유 무게대비 10% (4.4 g), 26°C, 65 bar, 고전환율을 고려한 최적조건은 lipozyme TL IM이 캐놀라유 무게대비 20% (8.8 g), 30°C, 100 bar 임을 도출하였다 (Fig. 6). 경제성을 고려한 최적화 조건과 높은 전환율을 고려한 최적화 조건에서 바이오디젤 전환 경향을 측정된 결과 경제적 최적 조건 상태에서 12시간 반응 후 88.3% 전환율을 보였으며, 고전환율 최적 조건에서는 99.7%의 높은 전환율을 나타내었다 (Fig. 7).

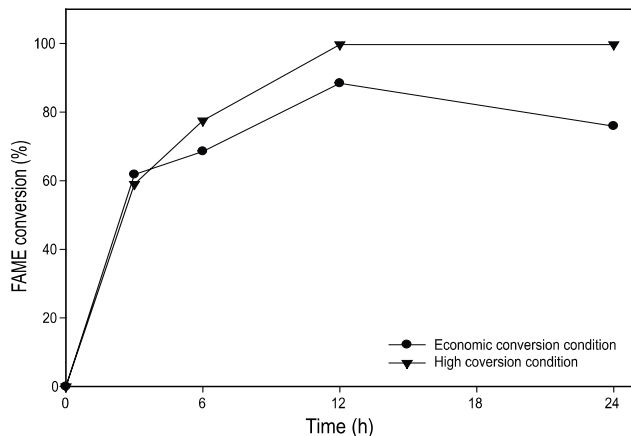
본 실험의 결과는 상온 (24°C) 조건에서 친환경적인 액체 이산화탄소를 이용하여 효소적 (lipozyme TL IM) 바이오디젤의 생산 적합성을 확인할 수 있었다. 액체 이산화탄소 상태에서 효과적으로 효소이용 바이오디젤 생산이 가능한 이유는 메탄올을 용해된 수수성 상태의 개질된 액체 이산화탄소가 오일과 효소의 반응에 공급되어 메탄올에 의한 효소의 직접적인 저해를 방지하여 전체적인 반응공정을 안정화시키는 것으로 사료된다.



**Fig. 6.** Effect of reaction temperature, pressure, and enzyme loading amount on biodiesel production in LCO<sub>2</sub> by lipozyme TL IM. Reaction conditions: (a) 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 5% (wt) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, pressure at 100 bar and agitation speed at 300 rpm, (b) 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 5% (wt) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 26°C and agitation speed at 300 rpm, (c) 50 mM of canola oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 26°C, pressure at 65 bar and agitation speed at 300 rpm.

액체 이산화탄소를 유기용매 대신에 사용함으로써 지구 온난화의 주요 요인인 이산화탄소를 이용할 뿐만 아니라 기존에 제시된 초임계 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산

방법보다 낮은 온도와 압력 조건에서 운전이 가능한 에너지절약형 친환경 바이오디젤 생산방법임을 확인할 수 있었다 [11]. 또한 최근 저온에서 활성이 높은 리파아제를 발굴한 연구가 발표되고 있어 저온에서 활성이 높은 고정화 리파아제 효소를 적용한다면 효소적 바이오디젤 생산의 경제성을 갖춘 상용화 공정 제시가 가능하리라 기대된다.



**Fig. 7.** Biodiesel production with the reaction time under liquid carbon dioxide. Economic conversion condition; 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 10% (wt) of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 26°C, pressure at 65 bar and agitation speed at 300 rpm. High conversion condition; 50 mM of canola oil, lipozyme TL IM 20.0 w% of oil, methanol/oil molar ratio of 3 : 1, temperature at 30°C, pressure at 100 bar and agitation speed at 300 rpm.

## 요 약

액체 이산화탄소를 반응용매로 사용하여 메탄올에 의한 효소 활성이 저해되는 것을 방지하고 친환경적이며 에너지 절감 효과가 우수한 바이오디젤 생산 방법을 제시하고자 유기용매 (t-butanol, acetone, chloroform, hexane, THF, cyclohexane, toluene)와 액체 이산화탄소 비교실험을 통해 액체 이산화탄소가 기타 유기용매와 같은 메탄올 저해를 방지하는 역할을 함으로써 반응 용매로서의 적합함을 확인하였다. 또한 동일 이산화탄소를 이용한 초임계 이산화탄소와 비교 실험을 수행하여 초임계 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산과 유사한 결과를 나타냄으로써 액체 이산화탄소를 이용한 바이오디젤 생산방법이 에너지절약형 친환경 바이오디젤 생산에 더욱 적합함을 확인할 수 있었다. 그리고 액체 이산화탄소 상태에서 바이오디젤 생산의 최적화를 통해 고효율 효소는 novozym 435, lipozyme RM IM 및 lipozyme TL IM 중에서 1,3-위치 선택적 특이성을 가진 lipozyme TL IM이 가장 우수함을 확인할 수 있었다. 또한 경제적 최적 조건과 고전환율 최적조건을 도출하여 각각 88.3%, 99.7%의 높은 전환율을 얻었다.

본 연구를 통해 액체 이산화탄소가 메탄올에 의한 효소활

성 저해를 방지하는 반응 용매로 적합하며, 지구 온난화의 주요 요인인 이산화탄소를 이용할 뿐 아니라 비독성 용매로서 친환경적이며 초임계 이산화탄소 상태보다 에너지 절감효과가 우수하여 효소적 바이오디젤 생산 방법에 새로운 방안을 제시 할 수 있었다.

## 감 사

본 연구는 지경부 산업원천기술개발사업 (과제번호 10028375)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

접수 : 2010년 7월 7일, 게재승인 : 2010년 8월 14일

## REFERENCES

- Ma, F. and M. A. Hanna (1999) Biodiesel production: a review. *Biores. Technol.* 70: 1-15.
- Srivastara, H. and R. Prasad (2000) Triglycerides-based diesel fuels, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 4: 111-133.
- Fukuda, H., A. Kondo, and H. Noda (2001) Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *J. Biosci. Bioeng.* 92: 405-416.
- Lee, D. H., C. H. Park, J. M. Yeo, and S. W. Kim (2006) Lipase immobilization on silica gel using a cross-linking method. *J. Ind. Eng. Chem.* 12: 777-782.
- Shimada, Y., Y. Watanabe, A. Sugihara, and Y. Tominaga (2002) Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. *J. Mol. Catal. B-Enzym.* 17: 133-142.
- Neilsen, P. M., J. Brask, and L. Fjerbaek (2008) Enzymatic biodiesel production: technical and economical considerations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 8: 692.
- Ikeda, M. (1992), Public health problems of organic solvents. *Toxicol. Lett.* 191-201.
- Lusas, E. W. and S. R. Gregory (1996) New solvents and extractor. *Proceedings of the World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing* 1: 204-219.
- Synder J. M., J. W. King, and M. A. Jackson (1996) Fat content for nutritional labeling by supercritical fluid extracton and on-line lipase catalyzed reaction. *J Chromatogr. A.* 750: 201-217.
- Bamberger, T., J. W. Erickson, C. L. Cooney, and S. K. Kumar (1988) Measurement and model prediction of solubilities of pure fatty acids, pure triglycerides, and mixture of triglycerides in supercritical carbon dioxide. *J. Chem. Eng.* 327-333.
- Lee, J. H., C. H. Kwon, J. W. Kang, C. Park, B. Tae, and S. W. Kim (2009) Biodiesel production from various oils under supercritical fluid condition by

- candida antartica* lipase B using a stepwise reaction method. *Appl. Biochem. Biotech.* 156: 454-464.
12. Nelson L. A., T. A. Foglia, and N. M. Marmer (1996) Lipase-catalyzed production of biodiesel. *Am. Oil Chem. Soc.* 73: 1191-1195.
  13. Soumanou M. M. and U. T. Bornscheuer (2003) Lipase-catalyzed alcoholysis of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105: 656-660.
  14. Li, L., W. Du, D. Liu, L. Wang, and Z. Li (2006) Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 43: 58-62.
  15. Damar, S. and M. O. Balaban (2006) Review of dense phase CO<sub>2</sub> technology: microbial and enzyme inactivation, and effects on food quality. *J. Food Sci.* 71: R1-R11.
  16. Garcia, S., N. M. T. Lourenco, D. Lousa, A. F. Swqueira, P. Mimoso, J. M. S. Cabral, C. A. M. Afonso, and S. Barreiros (2004) A comparative study of biocatalysis in non-conventional solvents: Ionic liquids, supercritical fluids and organic media. *Green Chem.* 6: 466-470.
  17. Lozano, P., G. Villora, D. Gomez, A. B. Gayo, J. A. Sanchez-Conesa, M. Rubio, and J. L. Iborra (2004) Membrane reactor with immobilized *candida antartica* lipase B for ester synthesis in supercritical dioxide. *J. Supercrit. Fluids.* 29: 121-128.
  18. Mardras, G., C. Kolluru, and R. Kumar (2004) Synthesis of biodiesel in supercritical fluids. *Fuel.* 83: 2029-2033.
  19. Varma, M. N. and G. Madras (2007) Synthesis of biodiesel from castor oil and linseed oil in supercritical fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46: 1-6.