

과일껍질을 이용한 바이오에탄올 생산 공정에서 산 가수분해 및 효소당화의 영향

이승범* · 김형진[†]

김포대학 보건환경과, *단국대학교 화학공학과
(2014년 9월 16일 접수, 2014년 10월 17일 심사, 2014년 10월 22일 채택)

The Effect of Acid Hydrolysis and Enzymatic Saccharification in Bioethanol Production Process Using Fruit Peels

Seung Bum Lee* and Hyungjin Kim[†]

Department of Health & Environment, Kimpo College, Gyeonggi 415-761, Korea
*Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 448-701, Korea
(Received September 16, 2014; Revised October 17, 2014; Accepted October 22, 2014)

초 록

산 가수분해공정과 효소당화공정을 이용하여 사과, 귤, 수박껍질로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산하고, 그 최적조건을 결정함으로써 과일껍질을 원료로 한 바이오에너지 생산가능성을 평가하고자 하였다. 산 가수분해공정을 이용하여 과일껍질로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산하기 위한 최적조건은 사과껍질의 경우 황산농도 20 wt%에서 90 min, 귤껍질과 수박껍질의 경우에는 각각 산 가수분해시간 60 min에서 황산의 농도가 15, 10 wt%인 것으로 나타났다. 효소당화공정을 이용하여 과일껍질로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산할 경우 효소로는 Viscozyme이 가장 우수한 전환특성을 나타내었으며, 최적 효소당화시간은 사과껍질(180 min), 귤껍질(60 min), 수박껍질(120 min)인 것을 알 수 있었다.

Abstract

The acid hydrolysis and enzymatic saccharification were carried out for the production of cellulosic ethanol. The possibility of bio-energy production from tangerine peel and apple and watermelon rind was evaluated by determining the optimum production condition. The optimum conditions for the production of cellulosic ethanol from fruit peel were as follows: the sulfuric acid concentration and reaction time of acid hydrolysis for the ethanol production from an apple rind were 20 wt% and 90 min, respectively. The concentration of sulfuric acid for tangerine peel and a watermelon rind at the hydrolysis time of 60 min were 15 wt% and 10 wt%, respectively. A viscozyme was proven as the best conversion for the ethanol production when using enzymatic saccharification from fruit peels. The optimum enzymatic saccharification time for tangerine peel and apple and watermelon rind were 60, 180, and 120 min, respectively.

Keywords: Acid hydrolysis, Enzymatic saccharification, Cellulosic ethanol, Viscozyme

1. 서 론

바이오매스(biomass)는 동식물로부터 유래되는 유기물질로서 나무, 농작물 등을 비롯해 축산폐기물, 도시하수의 유기슬러지에 이르기까지 그 종류가 다양하다. 이러한 바이오매스는 가공할 경우 사용이 편리한 액체나 가스로 전환하여 사용할 수 있기 때문에 미래에너지로서 관심을 받고 있다. 바이오매스의 지방, 탄화수소를 물리적, 화학적, 생물학적 처리를 통해 편리한 형태의 에너지를 만들 수 있는데, 주로 식물성 기름을 사용해 바이오디젤을, 당류의 경우 생물학적 발효를 통

해 바이오알코올을 만들거나 열분해가스화를 통해 합성가스를 만들 수 있다[1]. 바이오에탄올에 사용되는 원료로는 사탕수수, 당밀과 같은 당질계 작물이나 옥수수, 쌀, 보리 등의 곡류 및 감자, 고구마 같은 전분질계 작물이 있다[2-5]. 바이오에탄올을 생산하기 위해 이러한 곡물을 재배하기란 국토가 좁은 우리나라의 경우 비현실적일 뿐만 아니라 값비싼 식량을 연료로 사용한다는 것은 불가능한 일이다. 또한 바이오에탄올 생산비용 중 30% 이상이 원료부분으로 많은 비중을 차지하고 있으며, 사탕수수, 옥수수 등의 식량을 원료로 하여 바이오에탄올을 생산하는 경우 식량부족 및 가격폭등의 문제가 발생할 수 있으므로 대체 원료의 확보가 절실히 요구되고 있다. 따라서 안정적으로 원료를 공급받을 수 있으며, 쉽게 구하기 쉬운 음식물 폐기물이 대안이라 할 수 있다. 음식물 쓰레기의 적절한 처리 및 재활용은 폐기물 관리에 있어서 중요한 부분이며, 한편으로는 다른 생물의 영양원이나 대체에너지원으로 이용될 수 있는 잠재력을 가지고 있어 적절한 기술을 이용한 음식물 쓰레기의 자원화는 천연자원의 소비를 감소시켜 환

[†] Corresponding Author: Kimpo College,
Department of Health & Environment, Gimpo-daehak-ro 97, Wolgot-myeon,
Gimpo-si, Gyeonggi-do 415-761, Korea
Tel: +82-31-999-4207 e-mail: tivoli@kimpo.ac.kr

Table 1. Composition Analysis of Various Fruit Peels

	Moisture	Organics	Ash
Apple	78.72	19.2	2.08
Tangerine	76.94	22.5	3.56
Water melon	91.50	7.9	0.60

Table 2. Optimum Condition of Enzymatic Saccharification

Enzyme	Temperature (°C)	pH
Spirizyme	60~63	4.2~4.5
Viscozyme	25~55	3.3~5.5
Lactozym	37	6.5

경보전에 큰 기여를 할 수 있다[6]. 이러한 폐기물 중 셀룰로오스 원료로 사용할 수 있는 과일폐기물의 경우 국내 공영과일도매시장에서 발생하는 과일폐기물의 연간 처리량은 131,746 ton이며, 처리비용은 55 억원에 달한다[7]. 셀룰로오스 바이오매스를 활용하기 위한 연구는 국내에서도 많이 진행되어 오고 있으나 실용화에는 많은 어려움을 겪고 있다[7-10]. 바이오에탄올 생산에는 전처리, 당화, 발효공정이 필요하며, 이 중 전처리 공정은 바이오에탄올을 생산하는데 가장 큰 부분을 차지하고 있어 저비용의 전처리방법이 요구된다[11,12]. 전처리 및 당화공정에는 물리적, 화학적 또는 효소를 이용한 방법이 있다. 물리적 처리에는 볼 분쇄(ball-mill), 초음파 분해, 균질화(homogenization) 등이 있으나 에너지 소비량이 많아 적합하지 않다는 단점이 있다[13-15]. 효소처리는 낮은 가수분해율로 인해 처리 시간이 많이 소요된다는 단점이 있다[16]. 화학적 처리는 바이오매스의 전처리에 일반적으로 사용되고 있으며, 주로 산(HCl, H₂SO₄)과 염기(NaOH)를 이용한다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 생산되고 있는 사과, 귤, 수박껍질을 이용하여 산 가수분해공정(acid hydrolysis)과 효소당화공정(enzymatic saccharification)을 이용하여 셀룰로오스 에탄올을 생산하고, 그 최적조건을 결정함으로써 과일껍질을 원료로 한 바이오에너지 생산가능성을 평가하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 과일껍질의 전처리

셀룰로오스 에탄올의 원료인 과일껍질로는 사과, 귤, 수박을 이용하였다. 각 과일껍질의 구성 성분비를 Table 1에 나타내었다. 과일껍질은 진공오븐을 이용하여 40 °C에서 건조한 후 14/18 mesh (1.00~1.16 mm)의 크기로 고르게 분쇄하여 실험에 사용하였다.

2.2. 산 가수분해 및 효소당화공정

일반적으로 산의 경우 유기산보다는 무기산의 전처리 효율이 높고 염기의 경우 NaOH, KOH 등의 1가 염기가 2가 염기보다는 가용화율이 높은 것으로 알려져 있다[17,18]. 일반적으로 산을 이용한 가수분해는 강산을 이용하여 낮은 온도(40~50 °C)에서 반응시키는 방법과 약산을 이용하여 높은 온도(160~220 °C)에서 반응시키는 방법이 있다. 본 연구에서의 산 가수분해공정은 건조된 과일껍질 10 g을 50 °C의 온도에서 초순수 200 mL에 수화시킨 후 5~25 wt% 황산을 이용하여 150 °C의 온도에서 30~120 min 동안 진행하였다. 산 가수분해 후 수산화나트륨을 이용하여 pH가 7이 될 때까지 중화하였다. 과일껍

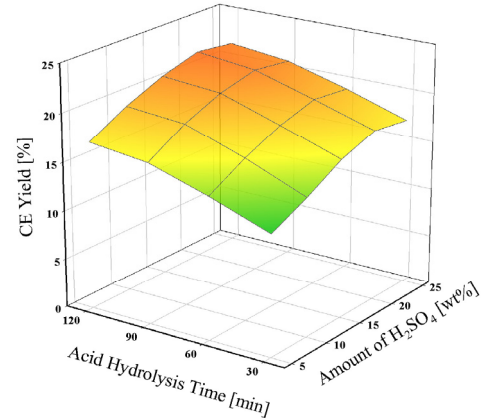


Figure 1. CE yield of the rind of an apple peel based cellulosic ethanol using acid hydrolysis.

질의 효소당화공정에서 사용된 효소는 Spirizyme, Viscozyme, Lactozym이며, 각 효소의 최적 당화조건은 Table 2와 같다. 건조된 과일껍질 10 g을 초순수 500 mL에 넣고 각 효소의 최적 온도조건에서 30~150 min간 효소당화공정을 진행하였다. 산 가수분해 및 효소당화공정 후 30 wt%의 효모를 이용하여 2일간 발효시켜 셀룰로오스 에탄올을 제조하였다.

2.3. 셀룰로오스 에탄올의 수율계산

셀룰로오스 에탄올의 수율계산을 위해 GC-FID를 이용하여 분석을 수행하였다. 실험에 사용된 컬럼은 길이 30 m, 내경 0.320 mm의 HP-5 컬럼을 사용하였으며, 60 °C에서 110 °C까지 온도프로그래밍을 하여 분석하였다. 이때 시료주입부와 검출기의 온도는 200 °C로 유지하였다. 크로마토그램으로부터 측정된 피크의 면적을 이용하여 식(1)과 같이 셀룰로오스 에탄올 수율(CE yield)을 계산하였다.

$$CE\ Yield = \frac{A_i}{A_{B,OH}} \times \frac{V\rho}{X} \times 100(\%) \quad (1)$$

여기서, A_i 는 크로마토그램에서 셀룰로오스 에탄올 피크의 면적이며, $A_{B,OH}$ 은 99.9% 에탄올 피크의 면적이다. V 는 셀룰로오스 에탄올의 부피(mL), ρ 는 에탄올의 밀도(g/mL), X 는 실험에 사용된 과일껍질의 질량(g)이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 산 가수분해

과일껍질을 이용한 셀룰로오스 에탄올 제조공정에서 산 가수분해공정은 황산을 이용하여 수행하였다. 과일껍질로부터 에탄올의 생산을 위해 효소가 대사할 수 있는 단당류 또는 이당류로의 전환이 가장 중요한 요소라 할 수 있다. 또한 가수분해는 바이오매스를 이용한 에탄올 발효에서 가장 핵심 부분이며 비용이 가장 많이 소요되는 부분이라 할 수 있다[7]. Figure 1은 사과껍질을 원료로 제조된 셀룰로오스 에탄올의 가수분해 시간과 황산농도에 따른 CE 수율을 나타낸 그림이다. 산 가수분해 시간이 증가함에 따라 사과껍질을 원료로 한 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 증가하였다. 또한 산 가수분해 시간 90 min을 기준으로 사과껍질 원료 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 황산

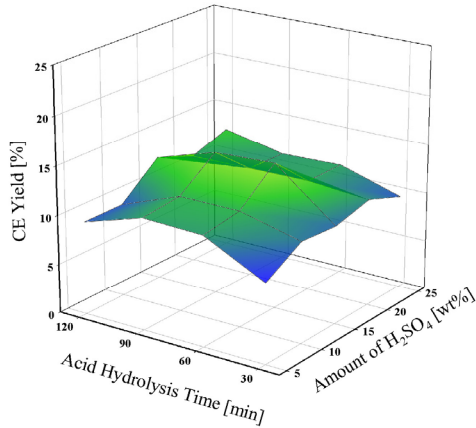


Figure 2. CE yield of the tangerine peel based cellulose ethanol using acid hydrolysis.

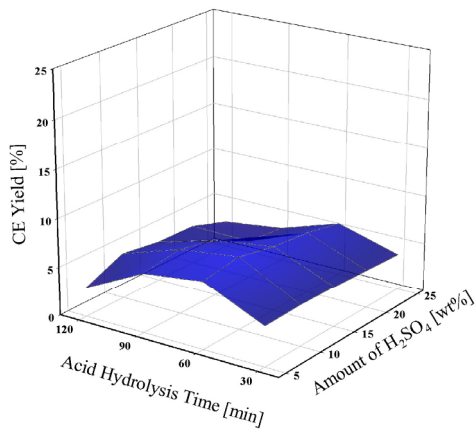


Figure 3. CE yield of the rind of a watermelon based cellulose ethanol using acid hydrolysis.

의 농도가 증가함에 따라 5 wt% (16.5%), 10 wt% (18.8%), 15 wt% (20.4%), 20 wt% (21.3%), 25 wt% (20.8%)로 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다.

Figure 2는 귤껍질을 이용하여 제조된 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율을 나타낸 그림이다. 사과껍질 원료 셀룰로오스 에탄올에 비해 전체적으로 CE 수율은 낮게 측정되었으며, 산 가수분해 시간이 증가함에 따라 CE 수율이 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 산 가수분해 시간 60 min을 기준으로 황산의 농도가 증가함에 따라 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 5 wt% (11.2%), 10 wt% (11.8%), 15 wt% (14.9%), 20 wt% (11.4%), 25 wt% (11.4%)로 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다. Figure 3은 수박껍질을 이용하여 제조된 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율을 나타낸 그림이다. 수박껍질의 경우 귤껍질과 같은 경향을 나타내었으나 전체적인 CE 수율은 낮게 측정되었다. 산 가수분해 시간 60 min을 기준으로 황산의 농도가 증가함에 따라 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 5 wt% (6.9%), 10 wt% (7.5%), 15 wt% (6.7%), 20 wt% (6.3%), 25 wt% (5.5%)로 측정되었다. 따라서 과일껍질을 이용한 산 가수분해 공정으로부터 생산된 셀룰로오스 에탄올의 최적조건은 사과껍질의 경우 황산농도 20 wt%에서 90 min, 귤껍질과 수박껍질의 경우에는 각각 산 가수분해시간 60 min에서 황산의 농도가 15, 10 wt%인 것으로 나타났다. 김 등의 연구에 의하면 배, 사과, 감 껍질에 산 가수분해를 황산, 질산, 염산을 이용하여 각각 0.5~3%

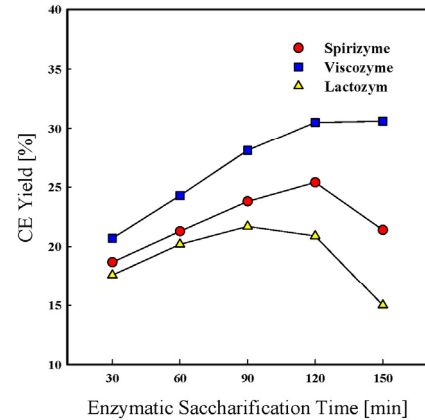


Figure 4. CE yield of the rind of an apple based cellulose ethanol using enzymatic saccharification.

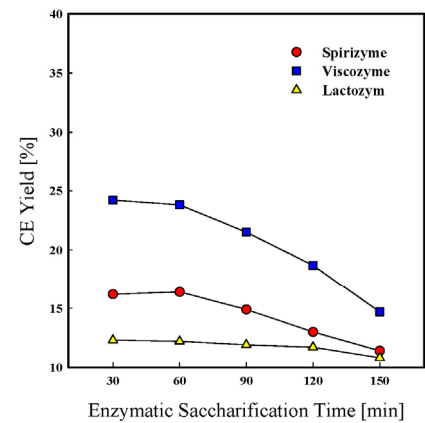


Figure 5. CE yield of the tangerine peel based cellulose ethanol using enzymatic saccharification.

의 농도에서 120 °C, 90 min간 반응시켰을 때 산의 농도가 증가할수록 가수분해율은 높다고 발표한 바 있다[19]. 이는 본 연구의 경향과도 일치함을 나타내고 있다. 효소를 이용하는 생물학적 전처리 는 환원당을 유리시키는 가수분해속도가 낮기 때문에 일반적으로 화학적 가수분해와 연계하는 공정으로 활용되고 있다. 보통 묽은 황산이 셀룰로오스 물질의 환원당 전환율이 높기 때문에 보다 선호되는 추세이다[20].

3.2. 효소당화

과일껍질로부터 에탄올을 생산하기 위한 발효공정 전단계로 전분질 및 셀룰로오스를 에탄올 발효가 가능한 글루코오스와 같은 단당류 및 이당류로 전환하는 공정을 당화과정이라 한다. 효소당화과정에서 고려해야 할 공정조건은 온도, pH, 효소량, 고액비, 반응시간 등이다. 이 중에서 각 효소마다 온도와 pH는 최적조건이 주어져 있으므로 고려해야 할 조건은 나머지 3가지이다[21]. 과일껍질을 이용한 셀룰로오스 에탄올 생산 공정에서 효소당화공정에 따른 전환특성을 확인하기 위해 효소로 Spirizyme, Viscozyme, Lactozym을 이용하여 실험을 수행하였다. 효소당화공정은 각 효소별로 최적조건에서 수행하였으며 효소의 사용량은 모두 1 mL로 일정하게 첨가하였다. Figure 4는 사과껍질을 이용하여 제조된 셀룰로오스 에탄올의 효소당화시간에 따른 CE 수율 변화를 나타낸 그림이다. 효소당화시간이 증가함에 따라 귤

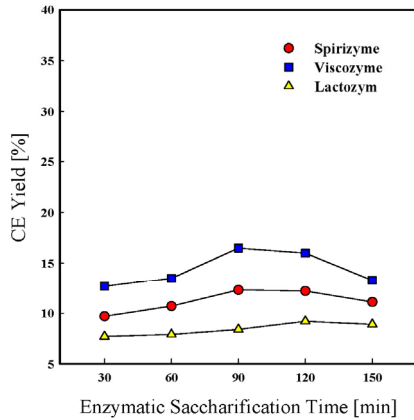


Figure 6. CE yield of the rind of a watermelon based cellulosic ethanol using enzymatic saccharification.

껍질을 원료로 한 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 전반적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 효소로 Viscozyme을 사용한 경우 효소당화시간이 증가함에 따라 30 min (20.7%), 60 min (23.4%), 90 min (27.1%), 120 min (30.5%), 150 min (30.6%)로 나타났다. 산 가수분해공정을 이용한 경우에 비해 전반적으로 CE 수율이 높게 나타났다.

Figure 5는 껍질을 이용하여 제조된 셀룰로오스 에탄올의 효소당화시간에 따른 CE 수율 변화를 나타낸 그림이다. 효소로 Viscozyme을 사용한 경우 Spirizyme과 Lactozym을 사용한 경우에 비해 CE 수율이 높게 나타났으며, 효소당화시간이 증가함에 따라 CE 수율은 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 효소로 Viscozyme을 사용한 경우 효소당화시간이 증가함에 따라 30 min (24.2%), 60 min (23.8%), 90 min (21.5%), 120 min (18.7%), 150 min (14.7%)로 나타났다. 껍질 원료 셀룰로오스 에탄올의 CE 수율은 사과껍질 원료 셀룰로오스 에탄올에 비해 낮게 나타났으나 산 가수분해공정을 이용한 경우에 비해 전반적으로 CE 수율이 높게 나타났다. Figure 6은 수박껍질을 이용하여 제조된 셀룰로오스 에탄올의 효소당화시간에 따른 CE 수율 변화를 나타낸 그림이다. 사과껍질이나 껍질에 비해 셀룰로오스 에탄올 전환특성이 떨어지는 것으로 확인할 수 있었다. 과일껍질을 이용한 셀룰로오스 에탄올 생산 공정에서 효소당화공정을 이용한 경우 효소로 Viscozyme을 사용할 경우에 가장 우수한 전환특성을 나타내었으며, 최적 효소당화시간은 사과껍질(180 min), 껍질(60 min), 수박껍질(120 min)인 것을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 국내에서 생산되고 있는 사과, 귤, 수박껍질을 이용하여 산 가수분해공정과 효소당화공정을 이용하여 셀룰로오스 에탄올을 생산하고, 그 최적조건을 결정함으로써 과일껍질을 이용한 바이오에탄올의 생산가능성을 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 산 가수분해공정을 이용하여 과일껍질로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산하기 위한 최적조건은 사과껍질의 경우 황산농도 20 wt%에서 90분, 껍질과 수박껍질의 경우에는 각각 산 가수분해시간 60 min에서 황산의 농도가 15, 10 wt%인 것으로 나타났다.

2. 효소당화공정을 이용하여 과일껍질로부터 셀룰로오스 에탄올을 생산할 경우 효소로는 Viscozyme이 가장 우수한 전환특성을 나타내

었으며, 최적 효소당화시간은 사과껍질(180 min), 껍질(60 min), 수박껍질(120 min)인 것을 알 수 있었다.

References

1. D. H. Lim, Bio-ethanol: Requirement and prospect for market expansion, *KISTI Market Report*, **3**, 19-23 (2013).
2. A. Demirbas, Progress and recent trends in biofuels, *Prog. Energ. Combust.*, **33**, 1-18 (2007).
3. B. C. Saha and M. A. Cotta, Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw, *Biotechnol. Progr.*, **22**, 449-453 (2006).
4. B. Hahn-Hagerdal, M. Galbe, M. F. Gorwa-Grauslund, G. Liden, and G. Zacchi, Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today, *Trends Biotechnol.*, **24**, 549-556 (2006).
5. S. M. Lee and J. H. Lee, Organic acid and enzyme pretreatment of *Laminaria japonica* for bio-ethanol production, *Appl. Chem. Eng.*, **23**, 164-168 (2012).
6. S. K. Han, H. S. Shin, S. H. Kim, and H. W. Kim, Effect of waste components on performance of acidogenic fermenter, *J. KORRA*, **10**, 65-70 (2002).
7. S. J. Park, Y. H. Do, J. S. Choi, Y. H. Yoon, and I. S. Cha, A Study on bio-ethanol production from fruit wastes, *Trans. Kor. Hydrog. New Energy Soc.*, **20**, 142-150 (2009).
8. N. J. Lee, H. S. Kim, I. S. Cha, and J. S. Choi, A study on characteristic of the bio-ethanol produced on fruit wastes for direct ethanol fuel cell(DFEC), *Trans. Kor. Hydrog. New Energy Soc.*, **22**, 257-264 (2011).
9. H. J. Han, H. Li, and S. J. Kim, Ethanol production by synchronous saccharification and fermentation using food wastes, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 474-478 (2006).
10. J. C. Lee, J. H. Kim, H. S. Park, and D. W. Pak, Bioethanol production using batch reactor from food wastes, *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **32**, 609-614 (2010).
11. R. Harun, W. S. Y. Jason, T. Cherrington, and M. K. Danquah, Exploring alkaline pre-treatment of microalgal biomass for bio-ethanol production, *Appl. Energ.*, **88**, 3464-3467 (2011).
12. Y. Xue, H. Jameel, R. Phillips, and H. M. Chang, Split addition of enzymes in enzymatic hydrolysis at high solids concentration to increase sugar concentration for bioethanol production, *J. Ind. Eng. Chem.*, **18**, 707-714 (2012).
13. R. Halim, R. Harun, M. K. Danquah, and P. A. Webley, Microalgal cell disruption for biofuel development, *Appl. Energ.*, **91**, 116-121 (2012).
14. J. Y. Lee, C. Yoo, S. Y. Jun, C. Y. Ahn, and H. M. Oh, Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae, *Bioresour. Technol.*, **101**, S75-S77 (2010).
15. J. R. Miranda, P. C. Passarinho, and L. Gouveia, Pre-treatment optimization of *scenedesmus obliquus* microalga for bioethanol production, *Bioresour. Technol.*, **104**, 342-348 (2012).
16. R. Harun and M. K. Danquah, Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production, *Process Biochem.*, **46**, 304-309 (2011).
17. B. Zhang, A. Shahbazi, and L. Wang, Alkali pretreatment and enzymatic hydrolysis of cattails from constructed wetlands, *Am. J. Eng. Appl. Sci.*, **3**, 328-332 (2010).
18. A. M. J. Kootstra, H. H. Beefink, E. L. Scott, and J. P. M.

- Sanders, Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw, *Biochem. Eng. J.*, **46**, 126-131 (2009).
19. H. S. Kim, N. J. Lee, K. M. Kang, J. I. Cho, I. S. Cha, Y. H. Yoon, and J. S. Choi, A study on pretreated of fruit wastes for bio-ethanol production, *Proceedings of Spring Conference on the Korea Society for Energy Engineering*, April 29-30, Daejeon, Korea (2010).
20. S. C. Rabelo, R. M. Filho, and A. C. Costa, Lime pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **153**, 139-150 (2009).
21. J. M. Choi, S. S. Choi, and S. H. Yeom, Bioethanol production from wasted corn stalk from Gangwon province : from enzymatic hydrolysis to fermentation, *Appl. Chem. Eng.*, **23**, 326-332 (2012).