

은행잎 추출부산물로부터의 Lactic acid 제조법에 관한 연구

고익석^{1,2} · 이학래¹ · 심원철¹ · 이수현¹ · 김선진¹ · 김재능^{2*}

¹뉴로팩

²연세대학교 패키징학과

A Study on the Method of Manufacturing Lactic Acid from *Ginkgo Biloba* Leaf Extraction Byproducts

Euisuk Ko^{1,2}, Hakrae Lee¹, Woncheol Shim¹, Soohyeon Lee¹, Sunjin Kim¹, and Jaineung Kim^{2*}

¹Neuropack, Wonju, 26404, Korea

²Department of Packaging, Yonsei University, Wonju, 26493, Korea

Abstract Despite the easing of social distancing, demand for non-face-to-face services continues to rise. Recently, the EU is pursuing a comprehensive plastic use reduction by expanding the scope of plastic use regulations for packaging plastics according to the New Cyclical Economy Action Plan(NCEAP). In response to this trend, the packaging industry is moving away from conventional non-degradable/petroleum-based plastics and conducting research on packaging materials using biodegradable plastics such as PLA(Poly Lactic Acid), PBAT(Poly Butylene Adipate-co-butylene Terephthalate). On the other hand, ginkgo leaves occur in large quantities in Korea and act as a cause of slip accidents and flooding. In this study, a method to utilize *ginkgo biloba* leaf as a new alternative biomass resource was proposed by producing lactic acid through pretreatment, enzymatic saccharification, and fermentation processes. For the efficiency of lactic acid production, a comparative analysis of lignin content from before and after browning was performed. In addition, the degree of glucan extraction was evaluated by applying a pretreatment method using three catalysts: hot water, sulfuric acid, and sodium hydroxide. It is difficult to expect high production of lactic acid with single process. Therefore, an integrated process operation using both the pretreated hydrolyzate and the residual solid enzymatic saccharification solution must necessarily be applied.

Keywords: Biodegradable material, Eco-friendly biomass, Extraction byproduct, *Ginkgo biloba* leaf, Lactic acid

서 론

사회적 거리 두기의 완화에도 불구하고 온라인 쇼핑 같은 비대면 서비스 시장의 수요는 지속해서 발생 되고 있다. 온라인 쇼핑 거래액은 2022년 기준 18조 7,423억 원으로 전년 동월 대비 전체 5.2% 증가하였으며 2021년 기준 택배 물동량은 전년 대비 7.59% 증가하였으며 택배 이용횟수는 5.2% 증가하였다. 또한, 포장 서비스가 필수적인 음식료품(11.1%), 농·축·수산물(4.9%) 군에서 전년 동월 대비 수요량이 증가하였다^{1,2)}. 환경산업공단의 폐기물 발생 및 처

리현황 통계에 따르면 폐기물 총발생량은 2021년 기준 1억 9,738만 ton 발생하여 전년 대비 1% 증가하였다. 지속적인 온라인 쇼핑 거래량의 증가 및 택배 유통량의 증가로 인한 폐기물의 양이 증가하고 있다³⁾. 석유 기반 플라스틱 폐기물의 지속적인 배출로 인해 2050년에는 배출량이 세계적으로 8억 5천만 ton 정도로 상승할 수 있다고 예상된다⁴⁾. 최근 EU에서는 신(新)순환경제 시행계획(New Circular Action Economy)을 통한 순환경제 구축을 계속해서 추진함에 따라 플라스틱 사용규제 범위를 포장에 사용되는 플라스틱에도 적용하려는 움직임을 보였다. 이를 통해 포괄적인 플라스틱 사용 감소를 추구하고 있다⁵⁾. 이러한 국제적인 트렌드에 대응하여 패키징 업계에서는 기존 포장재에 사용하던 난분해성 석유 기반 플라스틱을 대체하기 위하여 PLA(Poly Lactic Acid), PBAT(Poly Butylene Adipate Terephthalate) 같은 생분해성 플라스틱 연구를 활발히 진행하고 있다.

*Corresponding Author: Jaineung Kim
Department of Packaging, Yonsei University, 1 Yonseida-gil, Wonju, Kangwon-do, 26493, Korea
Tel: +82-33-760-2379, Fax: +82-33-760-2760
E-mail: kimjn@yonsei.ac.kr

이에 본 연구에서는 은행을 활용하여 Lactic Acid를 제조하고자 하였다. 은행(*Ginkgo biloba*)은 은행나무과(*Ginkgoaceae*) 은행나무목(*Ginkgoales*)에 속한다. 한국, 일본, 중국에서 기원하였으나 최근 미국, 유럽, 뉴질랜드, 인도, 아르헨티나 등을 비롯한 세계 각지에서도 식재되고 있다⁶⁾. 은행잎의 성분에서 flavonoid glycoside, terpene (ginkgolide, bilobalide) 물질은 항균효과를 가져 추출물로 기능한다⁷⁾. 그러나 은행잎 낙엽은 부서지지 않고 우천 시 도로에 부착되어 조경을 해치며, 낙엽이 배수구를 막을 시 인근이 침수되는 원인이 된다. 또한, 은행잎이 갖는 지용성 성분으로 인해 건조한 날씨에도 보행자들의 미끄러짐 사고를 유발한다⁸⁾. 이러한 문제를 해결하기 위해 지자체에서 자체적으로 수거하여 소각하거나 퇴비화하는 등 여러 방면으로 처리하고 있으나 역부족인 실정이며 소각 및 퇴비화에는 상당한 비용이 든다. 은행잎의 재활용 방안이 요구되는 상황에서, 본 연구에서는 은행잎을 PLA 생산의 원료로 활용하여 새로운 자원 순환 방식을 제시하고자 한다.

PLA는 lactic acid를 원료로 하여 제작한 생분해 플라스틱이며 열가소성이 뛰어나며 인체에 무해하다. 2022년 기준 세계 바이오 플라스틱 생산 능력 지표에서 20.7%로 가장 높은 비중을 차지할 정도로 우수한 생산 능력을 지닌다⁹⁾. 옥수수과 같은 곡물, 목질 식물, 해조류 등 바이오매스 다당류의 발효를 통한 lactic acid 수득 및 중합을 거쳐 생성된다. 은행나무는 glucan, mannan, xylan, galactan 등의 다당류 성분을 포함하는 목질계 바이오매스에 해당하여 PLA 생산원료로써 활용할 수 있다. 따라서 은행잎 추출물로부터 높은 glucan 회수 및 lactic acid 생산을 위한 최적화된 촉매 선정에 관한 연구를 진행하였다. 선정된 촉매를 이용한 전처리, 당화, 발효공정을 거쳐 은행나무 잎 유래 lactic acid 수득률을 높이기 위한 최적 반응조건을 도출하였다.

젖산균(Lactic acid bacteria, LAB)은 혐기성 조건에서 glucose와 같은 당을 발효하여 최종적으로 젖산(Lactic acid)을 만들어낸다. 발효공정에서는 일반적으로 *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Vagococcus* 등이 사용된다. 이 중 *Lactobacillus*는 그람양성 및 혐기성을 가진 막대기 형태의 균이다¹⁰⁾. 본 연구에서는 *Lactobacillus* 속 *pentosus* 종 및 *fermentum* 종을 발효 균주로 사용하였다.

2020년 기준으로 서울시 가로수 30만 5086주 중 은행나무는 10만 6205주로 약 35%의 비중을 차지하고 있다¹¹⁾. 일반적으로 곡물-목질계에 속하는 육상 바이오매스는 느린 생산속도로 인해 활용에 제약이 있다. 그러나 육상식물에서 매년 나오는 잎 부산물을 본 연구의 기술 공정에 적용한다면 친환경 바이오매스 자원을 lactic acid 수득 원료로써 대량 공급이 가능할 것으로 판단된다.

본 론

1. 실험재료

본 연구에서 바이오매스 원료로 활용한 은행잎은 연세대학교 미래 캠퍼스에서 수거하였다. 수거한 은행잎은 table water로 30 sec 동안 세척하여 이물질을 제거한 뒤 48시간 동안 상온에서 건조시킨 후 사용하였다.

2. 실험방법

2.1. 은행잎 추출부산물 성분분석

은행잎 추출부산물 성분분석은 미국신재생에너지연구소(NREL, national renewable energy laboratory)의 기술 report (lignin NREL/TP-510-42618를 비롯한 extractives NREL/TP-510-42619; carbohydrate)를 활용하여 진행하였다^{12,13)}. 분석 전 48 시간 동안 $45 \pm 5^\circ\text{C}$ 의 convection oven에서 건조한 뒤 분쇄하여 0.2~0.8 mm 범위의 크기를 가진 조각들만 선별하였다. 시험관에 시료 300 ± 3 mg, 72.0% H_2SO_4 3.0 mL를 첨가하여, $30 \pm 3^\circ\text{C}$ 의 항온수조에서 60 min 동안 1차 가수분해 반응을 시켰다. 반응 중 10분 간격으로 유리 막대를 이용하여 저어 시료와 황산의 원활한 혼합을 진행하였다. 반응 후 항온수조 내의 시료를 100 mL 유리병에 옮겨 담고, 반응액의 최종 산 농도가 4.0%가 되도록 84.0 mL의 deionized-water(DI-water)를 첨가하여 희석하였다. 고압멸균기(Thermo Scientific Co.- Napco 8000-DSE Autoclave, Frederick, MD, USA)를 이용하여 121°C 에서 1 시간 동안 희석된 반응액의 2차 가수분해를 진행하였다. 반응을 마친 후 액체 샘플을 취해 중화 및 여과하였으며, 고성능 액체 크로마토그래피 (High performance liquid chromatography system, HPLC)을 이용하여 탄수화물 분석을 하였다. HPLC system은 LC-10A (Shimadzu Inc., Kyoto, Japan) 및 Aminex HPX-87P column (Bio-rad, USA, 300×7.8 mm)을 사용하였고, 검출기는 refractive index detector(RID-10A, Shimadzu Inc., Kyoto, Japan)를 사용하였다. 이동상은 Deionized water를 사용하였으며, 유속은 0.6 mL/min, 검출기 및 컬럼의 온도는 각각 50°C , 85°C 로 설정하였다.

2.2. 전처리

2.2.1. 탄수화물 회수 조건 최적화

은행잎 부산물로부터 탄수화물 회수 조건 탐색을 위해 사용된 반응기는 bomb tubular type의 회분식 반응장치(Bomb tubular type reactor, Operator, Molten salt bath and silicon oil bath, Water bath로 구성)를 이용하였다. 용융염(molten salt)은 질산칼륨(KNO_3): 아질산나트륨(NaNO_2): 질산나트륨(NaNO_3)을 각각 53:40:7의 무게비율로 혼합하여 제조하였으며, tubular type 반응기 예열에 이

용하였다. 준비된 시료 4 g을 반응기에 넣고, 40 mL의 용매(water, sulfuric acid, sodium hydroxide)를 첨가하였다. 반응을 마친 후 상온까지 냉각시킨 후 상분리하여 HPLC를 이용해 탄수화물 및 과분해물 분석을 진행하였다.

2.2.2. 부산물 은행잎으로 탄수화물 생산 시험

관형 반응기로부터 얻은 최적 조건을 이용하여 bench 규모(30 L)의 회분식 반응기 SUS 316L(SUS; Steel Use Stainless)에서 탄수화물 생산 시험을 진행하였다.

2.3. 효소 당화

NREL Technical Report(NREL/TP-510-42629)를 따라서 잔여고체의 효소당화 시험을 진행하였다¹⁴⁾. 효소당화 시험은 100 mL 삼각 플라스크에 1 g-glucan을 기준으로 하는 양만큼의 기질과 2.0% 아지드화 나트륨(sodium azide) 1 mL, 50 mM 시트르산 나트륨 완충용액(sodium citrate buffer), (pH = 4.8) 50 mL, 효소를 넣은 후 Deionized Water를 넣어 부피가 100 mL가 되도록 하였다. 셀룰로스 상업 효소 Cellic CTec2(Novozymes, A/S Bagsvaerd, Denmark)의 양을 30 FPU(filter paper unit)/g-glucan으로 하여 효소를 첨가하였으며 진탕 배양기(model VS-8480SFN, Vision Scientific Co., Bucheon, Korea)를 이용하여 72 시간 동안 50°C, 150 rpm 조건에서 반응시켰다. 당화율의 시간별 경향성을 파악하기 위해 일정 시간 간격(3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 시간)으로 당화액을 채취하였으며 10 min 간 13,000 rpm에서 원심분리를 하였다. 원심분리 후 5 min 간 100°C에서 효소를 불활성 시킨 후 syringe filter를 이용하여 여과를 진행하였으며 Aminex HPX-87P column (Bio-rad, USA, 300 × 7.8 mm)이 장착된 HPLC로 분석하였다. HPLC를 이용하여 당화가 종료된 당화액의 농도를 분석하였다.

2.4. 발효

Lactic acid 발효를 목적으로 당화액을 121°C에서 15 min 동안 멸균하였다. 발효균주로는 *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus fermentum*을 사용하였으며, working volume 1 L jar scale의 발효조에서 48 시간 동안 10% inoculation, 30°C, 200 rpm, pH 6.2의 조건에서 발효를 진행하였다. 발효가 진행될 동안 일정한 시간 간격(0, 6, 12, 24, 48 시간)을 두어 샘플을 취하고 HPLC를 이용하여 glucose와 lactate 농도를 분석하였다. 검출기는 refractive index detector(RID-10A, Shimadzu Inc., Kyoto, Japan)을 이용하였으며, HPLC 컬럼은 Aminex HPX-87H column(Bio-rad, USA, 300 × 7.8 mm)을 사용하였다. 검출기와 컬럼의 온도는 각각 50°C, 65°C로 설정하였으며 5 mM 황산을 이동상으로 사용하여 유속은 0.5 mL/min로 유지하였다.

결과 및 고찰

1. 은행잎 추출부산물 성분분석

은행잎 추출부산물 2종 (갈변 전: GL-G, 갈변 후: GL-B)의 탄수화물 함량 분석 결과에서 갈변 전후 총 탄수화물 함량은 각각 20.5 wt.%, 20.3 wt.%로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 하지만 리그닌 함량은 갈변 전(GL-G) 31.3 wt.%, 갈변 후 46.2 wt.%로 갈변 후의 은행잎 추출부산물이 약 15 wt.% 높게 나타났다(Table 1). 미생물의 작용으로 분해되어 알코올, 유기산, 아미노산과 같은 물질로 전환될 수 있는 발효성 당은 6탄당류(glucose, mannose, galactose), 이당류(fructose, sucrose, maltose, lactose) 등을 포함한다. 발효성 당 또한 Lactic acid 생성에 사용되므로 6탄당류와 이당류의 함량이 높은 원료가 생성에 유리하다. 갈변 전, 후 은행잎 추출부산물의 6탄당류 함량이 각각 16.2 wt.%, 16.1 wt.%로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 안정된 방향족 구조를 가진 리그닌은 다당류의 분해를 방해하여 바이오매스 활용을 어려워지게 만든다^{15,16)}. 따라서 리그닌 함량이 더 적은 갈변 전(GL-G) 은행잎 추출부산물을 전처리 공정에 사용하였다.

2. 은행잎 추출부산물로부터 탄수화물 회수를 위한 촉매 선정

2.1. 탄수화물 회수 촉매

은행잎 추출부산물로부터 탄수화물 회수를 위한 전처리 방식 및 반응조건을 정리하여 발효당 생산을 위해 사용되는 최적화된 전처리 방법 및 반응조건을 설정하였다(Table 2). Hot water 전처리 방법은 적용과 회수가 쉬우며, 화학 촉매를 사용하지 않기 때문에 반응 후 화학 촉매 부산물이 생성되지 않는다. Sulfuric acid는 hemicellulose를 선택적으로 제거하여 반응 후 고체에 glucan과 리그닌을 잔류시킨다. Sodium hydroxide는 hemicellulose와 리그닌을 선택적

Table 1. Before browning (GL-G) and after browning (GL-B) composition of byproducts of *Ginkgo biloba* leaf extract

Classification		Composition (wt. %, ± SE)	
		GL-G	GL-B
Carbohydrates	Glucan	12.0 ± 0.1	12.3 ± 0.2
	Xylan	2.2 ± 0.0	2.0 ± 0.0
	Galactan	2.8 ± 0.0	2.5 ± 0.0
	Arabinan	2.1 ± 0.0	2.2 ± 0.0
	Mannan	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.0
	Subtotal	20.5	20.3
Lignin	Acid insoluble lignin	31.3 ± 0.4	46.2 ± 0.5
Crude protein	-	14.8 ± 0.2	13.2 ± 0.3
Ash	-	9.7 ± 0.0	10.1 ± 0.1

Table 2. Reaction conditions according to pretreatment catalysts for carbohydrate extract from *Ginkgo biloba* leaf extract Byproducts

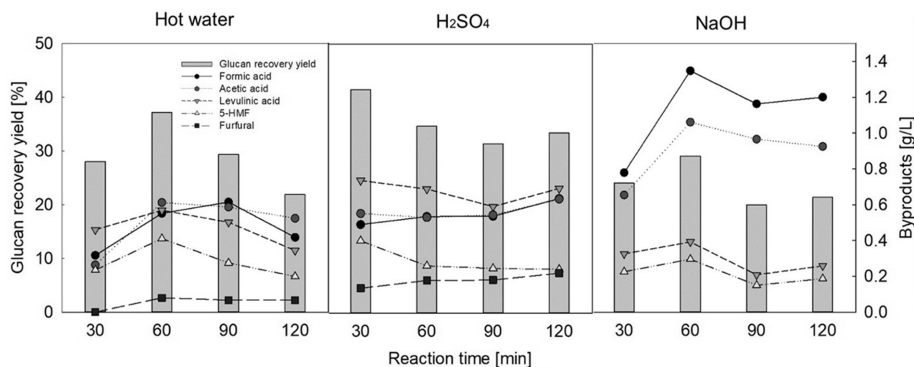
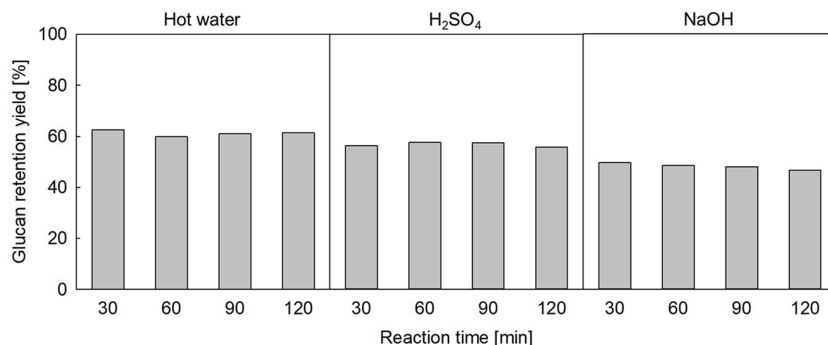
Variables	Pretreatment method		
	Liquid hot water	Dilute acid (sulfuric acid)	Alkali (sodium hydroxide)
Reaction temp. (°C)	150	150	150
Reaction time (min)	30, 60, 90, 120	30, 60, 90, 120	30, 60, 90, 120
Conc. (wt. %)	-	0.5	1.0
Solid : liquid	1:10	1:10	1:10

으로 제거하여 반응 후 고체에 glucan을 잔류시킨다. 각각의 전처리 방식은 효소의 cellulose 접근성을 개선하여 샘플의 효소당화율이 향상되도록 한다. 각 촉매와 반응조건에 따라 전처리를 진행하였으며, 액체 분획 분석 결과를 통해 glucan 회수율을 확인하였다(Fig. 1). Hot water 전처리의 경우 반응시간 60 min에서 최대 37.2%의 glucan 회수율을 보였으며, H₂SO₄ 전처리는 반응시간 30 min에서 최대 41.5%의 glucan 회수율을 보였다. NaOH 전처리는 반응시간 60 min에서 29.1%로 세 가지 전처리 방법 가운데 가장 낮은 glucan 회수율을 보였다. 과분해물(formic acid, acetic acid)의 농도는 반응 가혹도와 비례한다. 액체 분획 분석 결과에서 각 전처리 방식들의 과분해물의 농도를 파

악할 수 있었으며 이에 따라 NaOH 전처리 방법이 가장 가혹한 조건임을 확인하였다(Fig. 1). 고체 분획 분석결과를 통하여 glucan 잔여율을 확인하였을 때 높은 반응 가혹도로 인하여 NaOH 전처리에서 가장 낮은 glucan 잔여율을 보였다(Fig. 2).

2.2. 효소당화 적합 촉매

Lactic acid 생산에 적합한 전처리 촉매 선정을 위해 각 전처리 방법으로 처리한 샘플의 효소당화 시험을 진행하였다(Fig. 3). 대조군인 α -cellulose까지 고려하였을 때 NaOH 촉매에서 72 시간에서 90.9%로 가장 높은 효소 당화율을 보였다. 전처리 조건은 NaOH 농도 1.0 wt.%, 반응온도

**Fig. 1.** Glucan recovery rate and byproducts production yield of *Ginkgo biloba* leaf extract byproducts according to pretreatment catalyst and reduction conditions (reaction conditions: reaction temperature 150°C, solid : liquid = 1 : 10, H₂SO₄ concentration 0.5 wt.%, NaOH concentration 1.0 wt.%).**Fig. 2.** Glucan residual rate according to pretreatment catalyst and reaction conditions of *Ginkgo biloba* leaf extract byproducts (reaction conditions: reaction temperature 150°C, solid : liquid = 1 : 10, H₂SO₄ concentration 0.5 wt.%, NaOH concentration 1.0 wt.%).

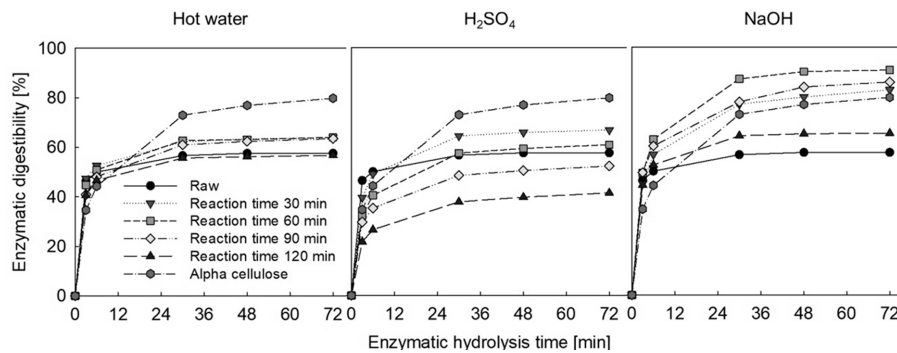


Fig. 3. Enzymatic saccharification test of residual solid after hot water, H_2SO_4 , and NaOH pretreatment of *Ginkgo biloba* leaf extract byproducts(enzymatic digestibility conditions: 50°C , 150 rpm, pH 4.8, Cellic® Ctech2, 30 FPU/g-glucan).

150°C , 반응시간 60 min, solid : liquid = 1 : 10으로 가장 높은 효소 당화율이 확인되었다.

2.3 탄수화물 회수 및 효소당화 최적의 촉매 선정

NaOH 촉매를 이용한 전처리를 통해 가장 높은 효소당화율을 얻을 수 있었으나 낮은 glucan 잔여율을 보였다(Fig. 2). 이러한 경향은 NaOH 전처리의 높은 가혹도로 인하여 glucan 분획이 decomposition 되기 때문이다. NaOH 전처리 조건의 가혹도를 낮추면 고체 분획과 액체 분획의 glucan 함량을 동시에 높일 수 있으며, 이에 따라 NaOH 촉매를 선정하였다.

3. 선정된 촉매를 이용한 전처리 최적 조건 확립

3.1. 최적 촉매 농도 선정

NaOH 촉매 전처리 조건 세분화를 위해 은행잎 추출부산물의 NaOH 농도에 따른 액체 및 고체 성분분석 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 액체 분획의 glucan 회수율 및 byproduct 생성량(Fig. 4(a))에 나타난 바와 같이 NaOH 농도가 0.5 wt.%까지 증가함에 따라 액체 분획으로 회수되는 glucan 수율이 40.1%까지 증가하였다. 그러나 최대 수율을

보인 이후 NaOH 농도가 0.75 wt.%에서 1.0 wt.%까지 증가함에 따라 glucan 수율이 점차 감소하여 1.0 wt.% NaOH 농도에서는 33.7%의 수율을 보였다. 과분해물은 폼산과 아세트산의 생성량이 NaOH 농도가 0.25 wt.%에서 1.0 wt.%까지 증가함에 따라 동시에 증가하여 각각의 농도가 1.6 g/L, 1.3 g/L로 확인되었다. 고체에 잔류하는 glucan의 경우 NaOH 농도가 0.25 wt.%에서 1.0 wt.%까지 증가함에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다. 0.25 wt.% 농도에서 최대 54.4%의 glucan 보존율을 보였으며, 1.0 wt.% 농도에서 47.6%의 보존율을 보였다. NaOH 농도에 따른 glucan 분획 결과를 고려해볼 때, 0.5 wt.% 농도가 가장 적절하다고 판단되었으며, 이때 고체 분획과 액체 분획의 총 glucan 함량은 88.7%로 확인되었다.

3.2. 최적 반응온도 선정

선정된 촉매 농도(0.5 wt.%)와 반응시간(60 min)을 고정하고 반응온도에 따른 glucan 회수 test를 진행하였다. 반응온도가 130°C 부터 150°C 까지 증가할수록 glucan 회수율이 18.1%에서 40.1%까지 상승하였으나 반응온도가 190°C 까지 증가하면서 glucan 회수율이 14.5%까지 감소하였다(Fig. 5

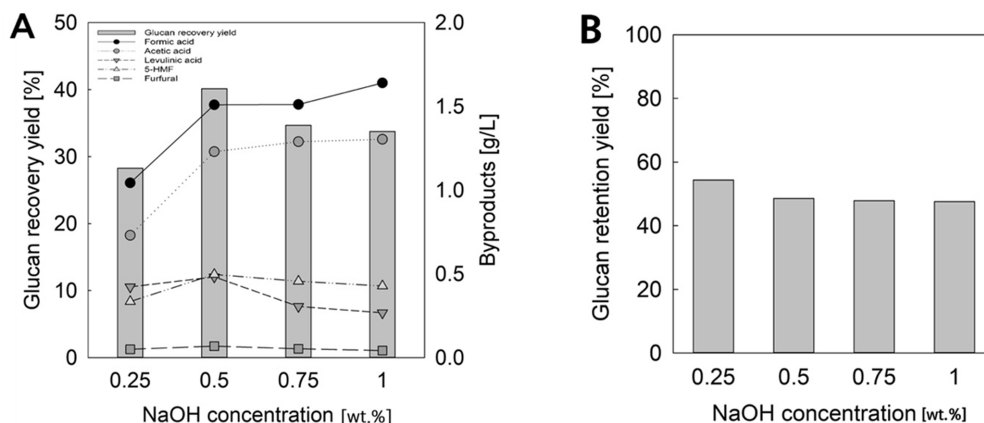


Fig. 4. (A) Recovery yield of glucan and the production yield of byproducts in liquid fractionation. (B) Glucan retention yield of solid fractionation(reaction conditions: reaction temperature 150°C , solid : liquid = 1 : 10, reaction time 60 min).

(a). 반응온도가 증가할수록 과분해물 생성량도 함께 증가하였으며, 반응도가 증가함에 따라 고체에 잔류하는 glucan이 감소하였다.

반응온도에 따른 효소당화 시험에서 반응온도 130°C부터 170°C까지 증가할수록 72시간 이후의 효소당화율은 83.1%에서 92.5%까지 상승하였다. 하지만 반응온도가 190°C에 도달했을 때 72시간 이후의 효소당화율은 65.3%를 보였다 (Fig. 6). 이러한 결과를 바탕으로 은행잎 추출부산물의 최적 전처리 조건은 반응온도 150°C, 반응시간 60 min, NaOH 농도 0.5 wt.%, 고체 : 액체 1 : 10으로 결정하였다.

4. 은행잎 추출부산물 전처리 및 효소당화

선정된 전처리 조건에 따라 30 L bench 급 반응기를 이용하여 은행잎 추출부산물로부터 발효당 생산을 위한 전처리 및 효소당화 시험을 진행하였다(Fig. 7). 멸균된 반응조에 전처리 시료를 넣고 총 액체 volume이 20 L가 되도록 DI-water를 첨가한 후, 30 FPU/g-glucan의 양만큼 효소를 첨가하여 72 시간 동안 당화 공정을 실시하여 91.1% 효소당화율을 얻었다.

5. 은행잎 추출부산물 당화액의 발효

NaOH 전처리로부터 얻은 가수분해액을 농축하여 lactic acid 발효에 사용하였다(Fig. 8). 시간 경과에 따라 발효액 내의 glucose 농도는 감소하고 lactate 함량은 증가하였다. 24 시간 경과 후 *L. pentosus* 균을 이용한 발효액의 glucose는 초기 11.5 g/L에서 0.4 g/L로, 96.3%의 glucose가 소모되었다. Lactate 농도는 발효시간 12 시간에서 최대 5.1 g/L로, 전환율 46.2%의 수율을 보였으며 48 시간에서 최종적으로 3.9 g/L이 잔류하였다. *L. fermentum* 균의 경우 24 시간 발효 후 10.2 g/L의 glucose를 소모하였으며, 이때 lactate 농도는 5.1 g/L로, 전환율 49.4%를 보였다.

NaOH 처리된 잔여 고체의 효소당화로부터 얻은 발효당

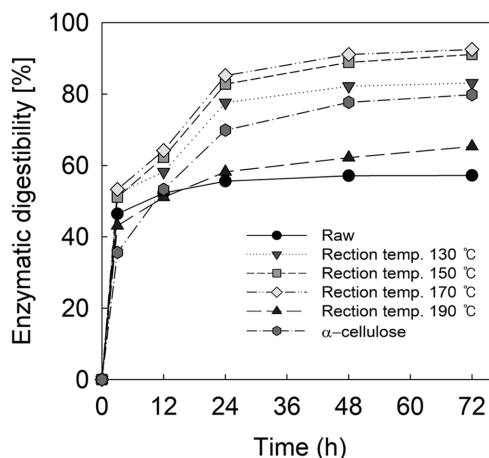


Fig. 6. Enzymatic saccharification test of residual solid of Ginkgo biloba leaf extract byproducts treated according to reaction temperature (reaction Conditions: solid : liquid = 1 : 10, reaction time 60 min, NaOH concentration 0.5 wt.%, 50°C, 150 rpm, pH 4.8, Cellic® Ctech2, 30 FPU/g-glucan).



Fig. 7. NaOH pretreatment and enzymatic saccharification of Ginkgo biloba extract byproducts using a bench scale reactor (left: pretreated hydrolysate, right: enzyme saccharification solution).

을 농축하여 lactic acid 발효에 사용하였다(Fig. 9). 48 시간 경과 후 *L. pentosus* 균을 이용한 발효액의 glucose는 초기 9.6 g/L에서 0.2 g/L로 감소하여, 97.6%의 glucose가

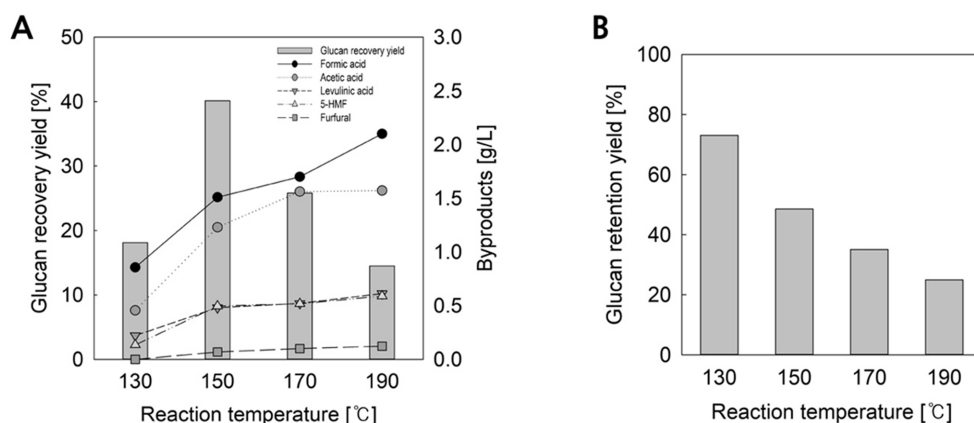


Fig. 5. (A) Recovery yield of glucan and the production yield of byproducts in the liquid fractionation. (B) Glucan retention yield of solid fractionation (reaction conditions: solid : liquid = 1 : 10, reaction time 60 min, NaOH concentration 0.5 wt.%).

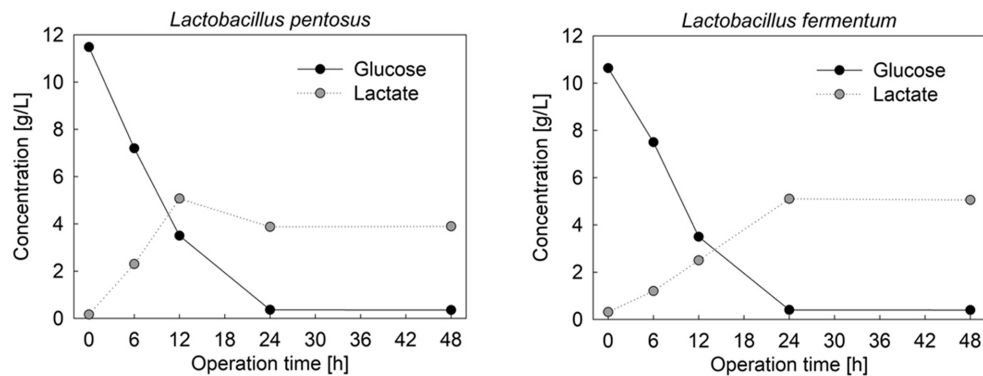


Fig. 8. Consumption of glucose and production of lactate according to fermentation time of pretreated hydrolyzate (reaction condition: 30°C, 200 rpm, MRS media based).

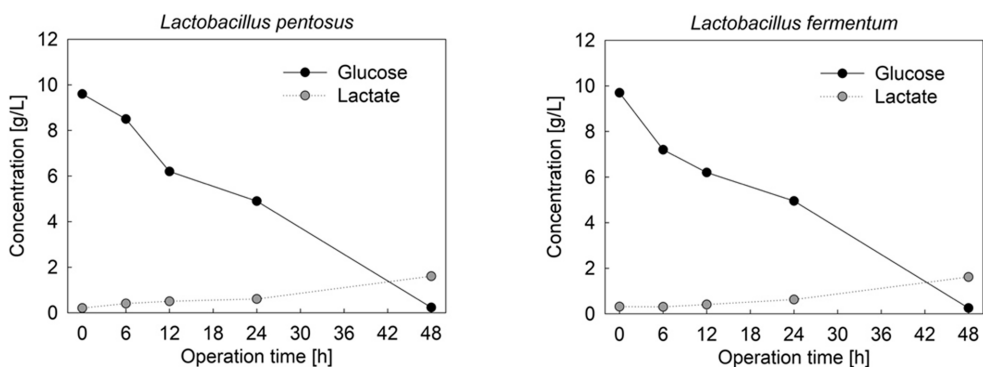


Fig. 9. Consumption of glucose and production of lactate according to fermentation time of residual solid enzyme saccharification solution after pretreatment (reaction condition: 30°C, 200 rpm, MRS media based).

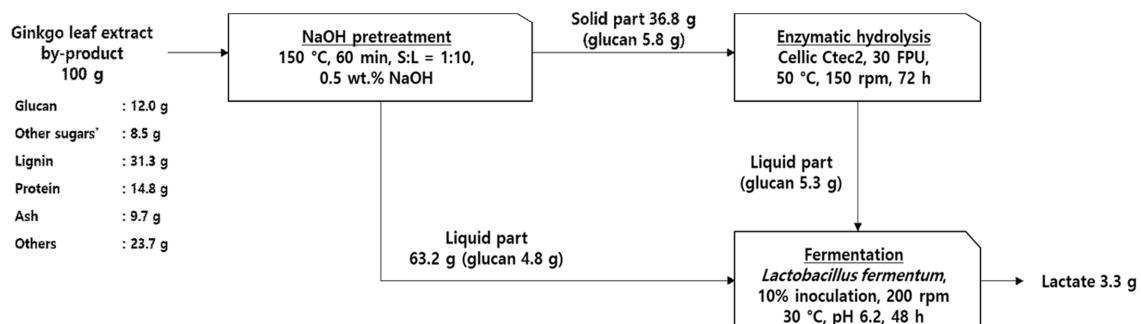


Fig. 10. Total process of manufacturing a lactic acid using *Ginkgo biloba* leaf extract.

소모되었다. 48 시간 후 lactate 생산량은 1.7 g/L로 17.8%의 낮은 전환율을 보였다. 한편, *L. fermentum* 균을 이용한 발효액의 glucose는 초기 9.7 g/L에서 48 시간 경과 후 0.1 g/L로 감소하여, 99.0%의 glucose를 소모하였다. 이때 lactate 농도는 1.7 g/L로 17.8%의 전환율을 보였다.

결론

본 연구에서는 은행잎 추출부산물 유래 lactic acid 수득을 위한 은행잎의 glucan을 전처리, 효소당화, 발효공정을

진행하였다. 효과적인 발효당 생산을 위해 hot water, sulfuric acid, sodium hydroxide의 3가지 전처리 방법을 사용하여 glucan 추출 및 과분해 거동을 평가하였다. 효소당화율이 가장 높았던 NaOH 촉매를 선정하여 은행잎 추출부산물을 전처리한 가수분해액을 농축해서 lactic acid 발효에 사용하였다. *L. pentosus* 균은 12 시간 발효 후 46.2%로 가장 높은 lactate 수율을 보였으며, 그 이상의 시간에서는 과분해물 생성이 이루어져 수득률이 낮아졌다. *L. fermentum* 균을 이용하였을 경우 24 시간 발효 후 49.4%의 lactate 수율을 보였다. NaOH 전처리 후 잔여고체의 효

소당화에서 생성된 당을 농축하여 발효하였을 때 48 시간 후 lactate 전환율은 17.8%를 보였다. 은행잎 추출부산물 100 g 에는 12 g의 glucan이 존재하며 NaOH 전처리 시 고체 분획에서 5.8 g, 액체 분획에서 4.8 g이 얻어졌다. 두 가지 분획으로 얻어진 glucan을 사용한 발효공정을 적용하여 각각 17.8%, 49.4%의 수율의 lactate를 생산되었으며 최종적으로 은행잎 100 g 당 생산 가능한 lactate 함량은 3.3 g으로 확인되었다(Fig. 10). 은행잎 추출부산물의 glucan은 단일 공정만으로 높은 lactic acid 수득을 얻기 어렵다. 따라서 전처리 가수분해액 및 잔여 고체 효소당화액을 모두 사용하는 통합 공정 작용이 필수적으로 적용되어야 한다.

요 약

실내마스크 착용 해제 및 거리 두기 완화에도 불구하고 비대면 서비스가 계속되어 이루어지고 있다. 특히 음식료품을 비롯한 농·축·수산물의 배송 수요는 증가하고 있어 이에 부가되는 플라스틱 포장 폐기물의 양이 꾸준히 증가하는 추세이다. 이에 따라 EU에서는 포장재 플라스틱의 사용을 규제하려는 방향으로 움직임을 보였다. 이러한 국제 트렌드의 흐름에 대응하여 국내 패키징 업계에서는 PLA, PBAT와 같은 생분해성 물질을 이용한 친환경 포장재 개발 연구를 활발히 진행하고 있다. 본 연구에서는 이러한 이슈에 대응하여 국내 가로수 중 상당 비중을 차지하여 식재된 은행나무의 은행잎을 lactic acid 생산에 관한 새로운 원료로 활용하고자 하였다. 은행잎은 cellulose, mannan, xylan 등의 다당류를 함유하고 있으며 대량의 원료를 얻을 수 있다는 유용한 특징이 있다. 본 연구를 통해 전처리한 은행추출부산물의 glucan은 단일 분획 공정으로는 높은 수율을 기대하기 어렵다고 판단되어지며, 낮은 수율 문제를 해결하기 위해서는 전처리 가수분해액, 효소당화액을 모두 활용하는 통합 공정이 필수적으로 적용되어야 한다.

사 사

본 논문은 농업기술진흥원 2022년 농식품 벤처육성 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Kim, S.Y. and Kim, K.N. 2023. Online shopping trend in December 2022. Statistics Korea (KOSTAT), Daejeon, Korea, pp. 1-6.
- Korea Integrated Logistics Association(KILA). 2020. The trend of volume and number of uses in the domestic parcel delivery market. National logistics information Center (NLIC), Sejong, Korea.
- Korea Resource Recirculation Information System(KRRIS). 2022. Waste generation and disposal status nationwide. 11-1480000-001552-10. Ministry of Environment, Incheon, Korea.
- Shen, L., Haufe, J. and Patel, M.K. 2009. Product overview and market projection of emerging bio-based plastics. PRO-BIP 2009. Copernic Institute for Sustainable Development and Innovation - Utrecht University. Netherlands. pp. 7-8.
- Yu, J.Y. 2022. Moves to tighten regulations on packaging plastics in EU. Korea Trade Investment Promotion Agency (KOTRA), Seoul, Korea.
- Nabavi, S.M., & Silva, A.S.(eds). 2019. Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. Academic Press, London, UK, pp. 241-250.
- Lee, I.H., Shim, Y., Choi, S.H., Park, J.Y., Han, S.W., Song, J.Y., and Yoon, S.J. 2006. A study on the antimicrobial effect of *Ginkgo biloba* leaves Extracts according to Concentrations of Ethanol for *staphylococcus aureus*. KSBB Journal. 21(4): 312-316.
- Seo, D.M., Park, C.W., Oh, S., and Won, D.Y. Resurrection of fallen leaves safety threats. <http://www.safetimes.co.kr/news/articleView.html?idxno=103990>
- European Bioplastics and nova-institute. 2022. Global production capacities of bioplastics. European Bioplastics, Berlin, Germany.
- Liu, S.Q. 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. Int J. Food Microbiol. 83(2): 115-131.
- Won, E.M. 2021. Parks & Recreation Bureau of Seoul Metropolitan Government. 2021. Seoul Metropolitan Government, Seoul, Korea.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., and Sluiter, J., Templeton, D. and Crocker, D. 2008. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass[electronic resource]. Laboratory Analytical Procedure (LAP), Colorado, U.S.
- Sluiter A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. and Templeton, D. 2005. Determination of extractives in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP), Colorado, U.S.
- Selig, M., Weiss, N. and Ji, Y. 2008. Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass. Laboratory Analytical Procedure(LAP). CO: National Renewable Energy Laboratory. Colorado, U.S.
- Chen, F. and Dixon, R. 2007. Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. Nature Biotechnol. 25: 759-761.
- Bonawitz, N.D., Kim, J.I., Tobimatsu, Y., Ciesielski, P.N., Anderson, N.A., Ximenes, E., Maeda, J., Ralph J., Donohoe, B.S., Ladisch, M., and Chapple, C. 2014. Disruption of mediator rescues the stunted growth of a lignin-deficient Arabidopsis mutant, Nature. 509(7500): 376-380.

투고: 2023.04.04 / 심사완료: 2023.04.18 / 게재확정: 2023.05.15