

산 가수분해와 발효에 의한 해조류로부터 에탄올 생산

나춘기*, 송명기, 손창인

Ethanol Production From Seaweeds by Acid-Hydrolysis and Fermentation

Choon-Ki Na*, Myoung-Ki Song, Chang-In Son

Abstract

In order to study the utilization of seaweeds as an alternative renewable feedstock for bioethanol production, their properties of hydrolysis and fermentation were investigated. The seaweeds were well hydrolyzed with diluted sulfuric acid. The weight loss of seaweeds reached 75-90%, but only 12-51% of them was converted into reducing sugars after the acid-hydrolysis at 130°C for 4-6h. The yield of reducing sugars increased with increasing the hydrolysis time up to 4h and then decreased thereafter. In contrast, the ethanol yield from the hydrolysates increased with hydrolysis time except for green seaweeds maximizing at 4h. Optimal fermentation time by *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 24858) varied with seaweeds; 48h for green seaweeds, 96h for brown and red seaweeds. The ethanol yield from the hydrolysate reached 138±37mg/g-dry for green seaweeds, 258±29mg/g-dry for brown seaweeds, and 343±53mg/g-dry for red seaweeds, which correspond to approximately 1.5-4.0 times more than the theoretical yield from total reducing sugars in the hydrolysates. The results obtained indicate clearly that the non-reducing sugars or oligosaccharides dissolved in the hydrolysate played an important role in producing bioethanol. Considering the productivity and production cost of each seaweed, brown seaweeds such as *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida* seem to be a promising feedstock for bioethanol production.

Key words Seaweed(해조류), Hydrolysis(가수분해), Fermentation(발효), Bioethanol(바이오에탄올)

(접수일 2011. 7. 11, 수정일 2011. 8. 10, 게재확정일 2011. 8. 10)

* 목포대학교 환경공학과

■ E-mail : nack@mokpo.ac.kr ■ Tel : (061)450-2483 ■ Fax : (061)452-8761

1. 서론

화석연료를 대체할 수 있는 신재생에너지 중 바이오연료는 가장 폭넓게 사용되고 있다. 바이오에너지는 재생가능하고 대체에너지의 확보, 환경개선, 원료 재배농가의 소득창출이라는 긍정적 효과를 지니고 있기 때문에 전 세계적으로 주목

을 받고 있다. 바이오에너지는 액체, 고체, 기체의 형태로 이용되고 있으며, 그 중 수송용 화석연료를 일정 부분 대체할 수 있는 바이오에탄올과 바이오디젤 등 바이오연료가 많은 주목을 받고 있다. 특히 바이오에탄올은 2006년 기준 바이오연료 세계 총생산량의 88% 이상을 차지하고 있을 정도로 대량 생산되어지고 있다. 현재 선진국의 바이오에탄올 산업은

농업 부산물을 활용하기 보다는 주산물인 옥수수, 수수 등의 전분질계와 사탕수수, 사탕무 등의 당질계를 원료로 사용하는 제1세대 바이오에탄올이 주를 이루고 있기 때문에 식량과 에너지의 경합문제가 제기되고 있다⁽¹⁻³⁾. 따라서 바이오에너지 산업의 지속적인 성장을 위해서는 농산물을 대체할 수 있는 새로운 유기자원과 이를 효율적으로 에너지화 할 수 있는 기술개발이 요구되고 있다. 이에 대한 대안으로 재생 가능하면서 저가로 활용 가능한 육상식물계 바이오매스(제2세대 바이오에탄올)와 해조류와 같은 해양생물계 바이오매스(제3세대 바이오에탄올)가 바이오에탄올 생산을 위한 대체 원료로 새로운 관심을 끌고 있다⁽⁴⁻¹⁰⁾.

우리나라의 경우 국토면적이 좁기 때문에 육상식물을 이용하는 바이오에탄올 생산공정은 환경적, 경제적 측면에서 실용화하기 어렵다. 그러나 우리나라는 삼면이 바다이고, 해조류 양식산업이 잘 발달되어 있는 점을 고려할 때, 해조류는 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스 공급원으로 가장 유리하고 적합하다고 할 수 있다.

해조류는 육상식물에 비해 생산성이 높고 이산화탄소의 저감 효과가 높을 뿐만 아니라 환경친화적이고 지속가능한 방법으로 대량 생산이 용이하다는 점에서 매우 유망한 바이오에너지 자원으로 인식되고 있다⁽¹¹⁾. 대부분의 해조류는 육상식물과 마찬가지로 셀룰로오스계 세포벽과 전분을 주된 탄수화물 저장 화합물로 축적하고 있지만 매우 넓은 범위의 복합다당류를 포함하고 있다⁽¹²⁻¹⁴⁾. 해조류의 탄수화물 성분은 대부분 헤미셀룰로오스 계열로 가수분해시 글루코오스보다는 갈락토오스, 자일로오스, 만노오스, 아라비노오스 등이 주를 이룬다. 따라서 해조류를 바이오매스로 활용하는 제3세대 바이오에탄올 공정은 당질계, 전분질계 및 리그노셀룰로오스계 육상식물을 이용하는 제1세대 및 제2세대 바이오에탄올 공정과는 전혀 다른 화학조성을 바탕으로 한다. Horn 등은 갈조류인 *Laminaria hyperborea*로부터 추출한 만니톨 (mannitol)을 에탄올 발효기질로 활용하여 만니톨 1g당 0.38g의 에탄올을 얻었다⁽¹⁵⁾. 이성목과 이재화는 *Laminaria japonica*의 산-가수분해와 염농도가 에탄올 발효에 미치는 영향을 검토하는 연구에서 비환원당인 만니톨만이 에탄올 전환이 가능하였고, 가수분해물의 에탄올 발효가 진행됨에 따라 오히려 환원당의 농도가 증가하는 특이성과 함께 환원당의 증가가 에탄올 발효에 영향을 미치지 않음을 확인하였다⁽¹⁶⁾. 한편 Wang 등은 묽은

황산과 효소를 이용한 2단계 가수분해를 통해서 *Gracilaria salicornia*로부터 13.8g/kg의 글루코오스를 얻었고 이를 발효시켜 이론값보다 훨씬 많은 79.1g/kg의 에탄올을 생산할 수 있음을 제시하였다⁽¹⁷⁾. 그러나 에탄올 발효를 위한 해조류의 가수분해 특성은 물론 가수분해물의 에탄올 발효특성, 에탄올 생산성 및 경제성에 대한 평가는 아직 부족한 실정이다.

본 연구에서는 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스 자원으로 해조류의 활용성을 평가하였다. 이를 위해 우리나라 해역에서 생산되는 녹조류(파래, 청각), 갈조류(다시마, 미역) 및 홍조류(김, 우뚝가사리)를 대상으로 각 해조류별 가수분해 특성과 *Saccharomyces cerevisiae*에 의한 가수분해물의 에탄올 발효특성을 검토하였다. 이를 통해 해조류별 가수분해 및 에탄올 발효 특성에 대한 기초자료를 축적하고, 각 해조류의 에탄올 생산성을 평가하여 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스 자원으로 해조류의 활용 가능성을 비교 평가하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험재료

해조류는 녹조류(*Chlorophyceae*), 갈조류(*Phaeophyceae*), 홍조류(*Rhodophyceae*)로 분류된다. 본 연구에서는 녹조류로 청각(*Codium fragile*)과 파래(*Enteromorpha*)를, 갈조류로 미역(*Undaria pinnatifida*)과 다시마(*Laminaria japonica*)를, 홍조류로 김(*Porphyra tenera*)과 우뚝가사리(*Gelidium amansii*)를 각각 선정하였다. 이들 해조류는 지역 시장에서 건조물 형태로 구입하였다. 해조류들은 커터밀을 이용하여 100mesh 이하로 분쇄하였다. 해조류 분말은 80°C에서 24시간 건조시킨 후 PE백에 밀봉하여 보관하였다.

에탄올 발효를 위한 효모로는 *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 24858)를 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였다. *S. cerevisiae* 균주는 YM 배지를 사용하여 -20°C에서 보관하였다.

2.2 해조류의 가수분해

해조류의 산-알카리 가수분해는 250mL 가압분해병에 해

조류 분말 1g과 증류수, 0.5-1.0N H₂SO₄ 또는 NaOH 용액 100mL를 넣어 잘 혼합하고 전기오븐을 이용하여 130℃에서 2~8시간 가열하는 방법으로 실시하였다. 가수분해 후 유리된 당류를 포함하는 액상과 잔류 고형물질은 GF-C 여과지를 이용하여 분리하였다. 여지상의 고형물질은 온수로 세척한 후 80℃에서 완전 건조하고 무게를 칭량하여 가수분해 조건에 의한 유기물의 분해율을 산출하는데 이용하였다. 여액은 일부를 분취하여 총환원당 농도를 분석하였으며, 나머지는 HCl 또는 NaOH 용액을 가하여 pH를 4.3으로 조절한 다음 에탄올 발효를 위한 시료로 사용하였다.

2.3 에탄올 발효

에탄올 발효는 250mL 플라스크에 100mL의 가수분해액 (pH 4.3)을 넣고 배양된 *S. cerevisiae* 균주를 접종한 다음 교반속도 120rpm, 발효온도 35℃의 조건의 인큐베이터에서 1~5일간 실시하였다. 접종원인 *S. cerevisiae* 균주는 영양염으로 glucose 10g/L, yeast extract 0.5g/L, urea 1g/L, Na₂HPO₄ 0.5g/L, KH₂PO₄ 2.5g/L, MgSO₄ 1g/L, (NH₄)₂SO₄ 1g/L, FeSO₄ 0.001g/L를 포함하는 배양액 100mL에 YM 배지상의 *S. cerevisiae* 균주 소량을 접종하고 35℃에서 48시간 동안 배양하였다. 이 배양액 10mL씩을 분취하여 1,000rpm에서 3분간 원심분리하여 균주를 농축한 후 상등액을 버리고, 잔류 영양염을 제거하기 위해 증류수로 3회 반복 세척하였다. 농축된 균주(건중량 25~30mg)를 가수분해액 100mL에 분산시켰다. 발효기간 동안 주기적으로 발효액 5mL씩을 분취하여 4,000rpm에 5분간 원심분리한 후 상등액 중의 에탄올 농도와 잔류 환원당 농도를 분석하였다.

2.4 분석방법

가수분해 조건별 해조류의 분해율은 가수분해 후 잔존하는 고형물질의 무게를 바탕으로 다음 식을 이용하여 Wight loss(%)로 산출하였다.

$$\text{Weight loss}(\%) = \frac{W_d - W_r}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

여기서 W_d는 해조류의 건조무게, W_r는 가수분해용액에

잔존하는 고형물질의 건조무게이다.

환원당 농도는 DNS 법¹⁸⁾을 이용하여 분석하였다. DNS 시약은 2N NaOH 용액 100mL에 5g의 3,5-dinitrosalicylic acid와 150g의 Rochelle salt를 순차적으로 용해시킨 다음 총부피가 500mL가 되도록 증류수를 가하는 방법으로 제조하였다. 환원당 분석을 위한 표준시약으로는 글루코스 40~1,000mg/L를 사용하였다. 환원당 농도 분석용액은 적절한 농도로 희석된 전처리 시료 1mL에 DNS시약 1mL를 첨가하고 끓는 물에 넣어 15분간 반응시킨 다음 20℃로 15분간 냉각시키고 3mL의 증류수를 가하여 제조하였다. 환원당 농도의 정량은 UV-분광계(UV-2401PC, Shimadzu)를 이용하여 DNS시약으로 발색시킨 분석용액의 흡광도를 파장 546nm에서 측정하고 이를 표준용액의 흡광도와 비교하는 방법으로 분석하였다. 해조류별 환원당 생성량은 환원당 농도를 이용하여 다음 식으로 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{Reducing sugar yield (mg/g-DS)} \\ = \frac{(C_R \times V_H)}{W_d} \times D_f \end{aligned} \quad (2)$$

여기서 C_R은 시료용액 중의 환원당 농도(mg/L), V_H는 가수분해 용액의 부피(L), W_d는 가수분해에 사용된 해조류의 건조중량(g), D_f는 희석비이다.

효모발효 후 생산된 에탄올 농도는 gas chromatography (GC Model 250A, Shimadzu)를 이용하여 정량분석하였다. GC는 flame ion detector (FID)와 DB-WAX column, 30m×0.25mm ID(Agilent Technologies, USA)으로 구성된다. Injector, detector와 column oven의 온도는 각각 200, 230와 80℃로 설정하였으며, 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 에탄올 정량분석을 위한 표준시료는 증류수에 에탄올 0.01-10% v/v를 함유한 시료를 사용하였다. 해조류별 에탄올 생산량은 시료용액 중의 에탄올 농도를 이용하여 다음 식으로 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{Ethanol yield (mg/g-DS)} \\ = \frac{(C_{Et} \times V_F)}{W_d} \times f \end{aligned} \quad (3)$$

여기서 C_{Et}은 시료용액 중의 에탄올 농도(mg/L), V_F는 발효용액의 부피(L), f는 분취율로 V_H/V_F이다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 해조류별 가수분해 특성

3.1.1 가수분해 촉매

바이오매스의 가수분해방법은 생물학적 및 화학적 방법으로 나눌 수 있다. 다양한 효소를 이용하는 생물학적 전처리법은 환원당을 유리시키는 가수분해 속도가 낮다. 따라서 일반적으로 화학적 가수분해와 연계하는 공정으로 활용되고 있다. 화학적 가수분해는 corn, switchgrass, sugar cane 및 straw 등 다양한 바이오매스에서 그 효과가 입증되어 있다⁽¹⁹⁻²²⁾. 화학적 가수분해에서는 보통 산과 알칼리가 이용되고 있으며, 이 중 산이 셀룰로오스 물질의 환원당 전환률이 높기 때문에 보다 선호되는 추세이다⁽²³⁾.

Fig. 1은 증류수, 1N 황산 및 1N 가성소다 용액을 이용한 가수분해반응을 통해 각 해조류별 환원당 생성량을 비교하여 보여주고 있다. 가수분해 용매별 환원당 생성수율은 모든 해조류에서 황산>증류수>가성소다 순으로 높았다. 해조류별로는 홍조류>녹조류>갈조류 순으로 환원당 생성수율이 높게 나타났다. 특히 파래(*Enteromorpha*)와 청각(*Codium fragile*)은 같은 녹조류임에도 불구하고 환원당 생성수율이 청각에 비해 파래가 2배 이상 높을 정도로 큰 차이가 나는 특성을 보였다.

가수분해 촉매가 해조류별 에탄올 생산량에 미치는 영향을

확인하기 위해서 증류수, 황산 및 가성소다를 촉매로 하는 가수분해물(Fig. 1)을 대상으로 에탄올 발효를 실시하였다. 그 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 해조류의 종류에 관계없이 황산을 촉매로 하는 가수분해물에서 가장 높은 바이오에탄올이 생산되었다. 이성목과 이재화는 다시마를 이용한 바이오에탄올 생산에서 산-가수분해물이 환원당 생성량은 높았으나 바이오에탄올 생산량은 오히려 증류수를 이용한 가수분해물에서 더 높았다고 보고하였다⁽¹⁶⁾. 그 원인으로는 산처리시 생성되는 염이 효모의 활성을 저해했기 때문이라고 주장하였다. 그러나 본 연구에서는 1N의 황산을 사용했음에도 불구하고 증류수 처리에 비해 황산처리가 더 높은 바이오에탄올 생산량을 보였다. 또한 해조류 대 가수분해용액의 비가 1:100으로 매우 낮았음에도 불구하고 증류수와 가성소다를 촉매로 하는 가수분해물은 점성도가 매우 높아 여과를 통한 고액분리가 어려웠을 뿐만 아니라 에탄올 발효를 위한 pH의 조절 및 발효과정에서 녹조류를 제외한 모든 해조류의 가수분해물이 겔 상태로 응결하는 특성을 나타내 적절한 발효가 불가능하였다. 이는 알긴산, 캐러기난, 아가로즈 등과 같은 해조류 고유의 점질 다당류가 증류수와 가성소다 수용액에 다량 용해되었거나 미분해되었기 때문으로 판단된다. 따라서 증류수와 가성소다를 해조류 가수분해 촉매로 사용할 경우에는 에탄올 발효를 적용하기 전에 이들 점질 다당류를 분해하거나 제거할 수 있는 후속공정이 필요하다.

해조류별 황산-가수분해액의 바이오에탄올 생산량은 홍

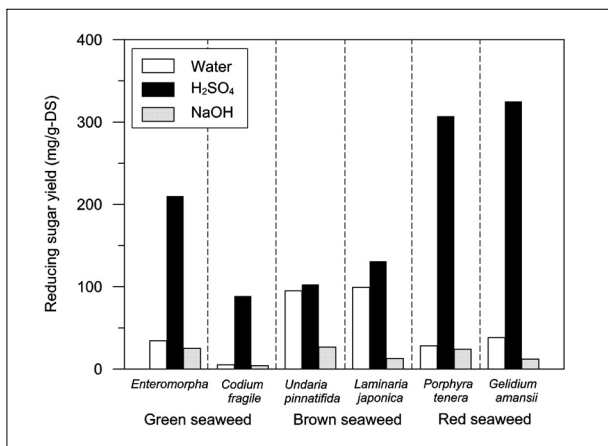


Fig. 1 Reducing sugar yields of various seaweeds by hydrolysis with water, 1N H₂SO₄ and 1N NaOH for 8h at 130°C

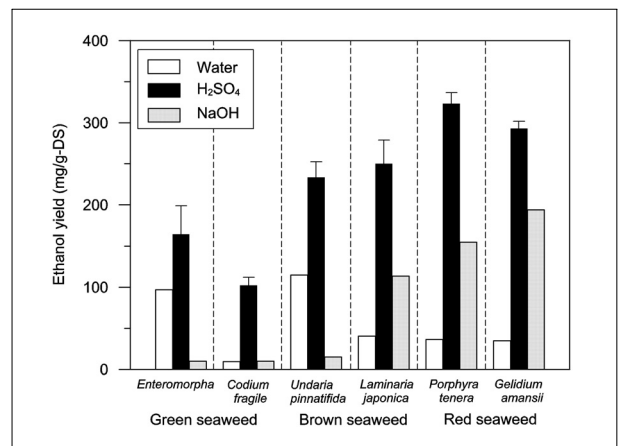


Fig. 2 Ethanol yield from hydrolysate of seaweed prepared with water, 1N H₂SO₄ and 1N NaOH for 8h at 130°C. Fermentation was conducted with *Saccharomyces cerevisiae* for 96h at 35°C

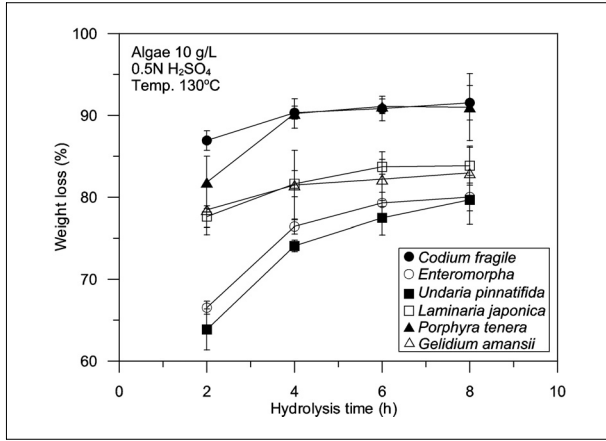


Fig. 3 Weight loss of seaweeds after hydrolysis with 0.5N H₂SO₄ at 130°C as a function of hydrolysis time

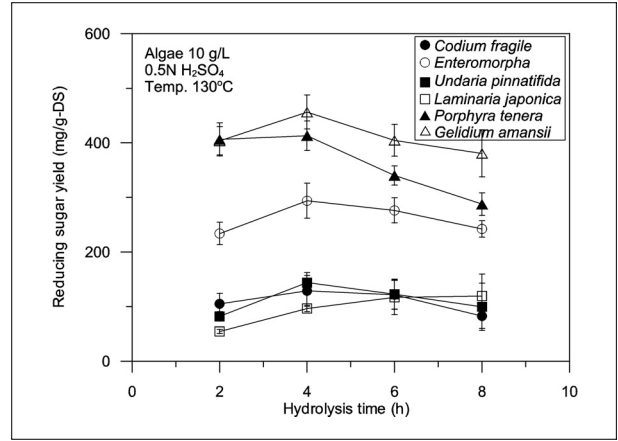


Fig. 4 Reducing sugar yield of seaweeds after hydrolysis with 0.5N H₂SO₄ at 130°C as a function of hydrolysis time

조류)갈조류)녹조류 순으로 높게 나타나 환원당 생성량과 일치하지 않았다.

이상의 결과를 종합하면, 해조류의 가수분해를 위한 촉매로서 황산과 같은 산 촉매가 증류수나 가성소다에 비해 환원당 생성은 물론 바이오에탄올 생산수율에서도 월등히 효율적이었으며, 산-가수분해시 생성되는 염에 의한 *S. cerevisiae*의 활성 저하는 바이오에탄올 생산에 큰 영향을 미치지 못하였다.

3.1.2 산-가수분해 시간

해조류별 산-가수분해 속도를 비교하기 위하여 0.5N 황산에 각각의 해조류 1.0g씩을 주입하고 130°C에서 2~8시간 반응시킨 후 고형잔류물과 환원당 농도를 측정하였다. 그 결과를 Fig. 3과 Fig. 4에 해조류별로 비교하여 도시하였다. 가수분해에 의한 무게손실(용해율)은 녹조류, 갈조류, 홍조류의 분류보다는 각 해조류별로 상이하게 나타났다. 즉, 녹조류인 청각과 홍조류인 김은 최대 91%의 무게손실을, 갈조류인 다시마와 홍조류인 우뚝가사리는 최대 83%의 무게손실을, 녹조류인 파래와 갈조류인 미역은 최대 80%의 무게손실을 보였다. 각 해조류의 무게손실은 가수분해시간이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었으나 대체로 가수분해시간 4시간 이후에는 증가폭이 감소하는 특성을 보였다.

무게손실과는 달리 환원당 생성량은 다시마를 제외하고는 모두 가수분해 4시간에서 최대값을 나타낸 후 감소하는 거동

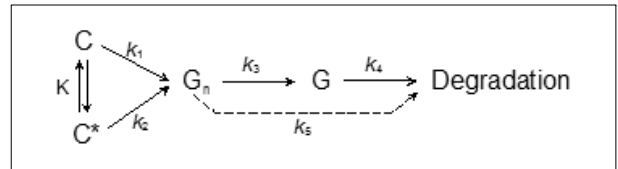


Fig. 5 Schematic steps for hydrolysis of biomass

을 보였다. 이는 4시간 이후부터 과분해가 일어나고 있음을 시사한다. 이러한 과분해 현상은 특히 홍조류인 김과 우뚝가사리에 심하게 나타났다. 즉, 가수분해 4시간에 비해 8시간에서의 용해율은 김이 약 0.9%, 우뚝가사리가 약 1.8% 증가한데 반해 환원당 생성량은 김의 경우 약 30%, 우뚝가사리의 경우 약 16%가 감소하였다.

산-가수분해에 의해 가용화된 해조류 성분은 64~91%에 이르는데 반해 환원당 전환수율은 6~45%에 불과할 정도로 큰 차이를 보였다. 이는 해조류에서 용해된 성분들이 대부분 가용성 올리고머(oligomer) 형태로 유리되며, 이들 중 일부만이 환원당으로 전환되었음을 나타낸다. 바이오매스의 일반적인 가수분해경로는 Fig. 5와 같다⁽²⁵⁾. 여기서 K는 평형상수, k_n 은 속도상수, C와 C*는 각각 결정질과 비정질 셀룰로스 또는 헤미셀룰로스, G_n은 올리고당류(oligosaccharides), G는 단당류(nomosaccharides)이다. 일반적으로 $k_2, k_3 \gg k_1$ 으로 알려져 있다⁽²⁵⁾. Fig. 3과 Fig. 4의 결과를 위 식에 대입해보면 해조류의 산-가수분해는 가용성의 올리고당류를 생성하는 반응속도 k_2 가 단당류로 전환되는 반응속도 k_3 에 비해 월등히 큰 반응임을 추정할 수 있다. Fig. 4에 나타난 가

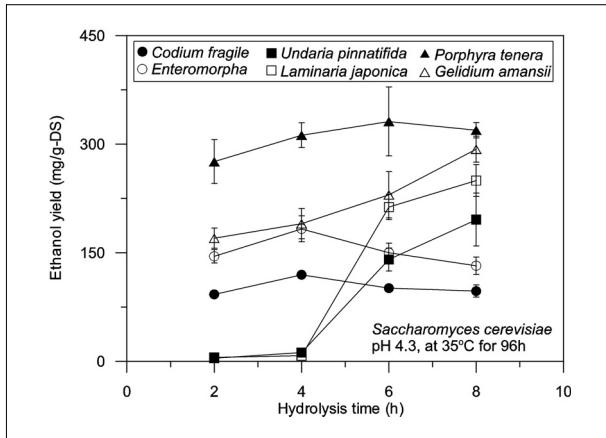


Fig. 6 Ethanol yield from hydrolysate of seaweed prepared with 0.5N H₂SO₄ at 130°C for various hydrolysis time. Fermentation was conducted with *S. cerevisiae* for 96 h at 35°C

수분해시간별 환원당 생성량 추세는 4시간까지는 $k_3 > k_4$ 이지만 그 이후에는 대체로 $k_4 > k_3$ 임을 보여주고 있다.

Fig. 6은 해조류의 가수분해 시간별 바이오에탄올 생산량을 해조류별로 비교한 것으로, 녹조류인 파래와 청각은 가수분해시간 4시간에서 최대의 바이오에탄올 생산량을 보인 반면, 갈조류인 다시마와 미역은 가수분해시간 4시간 이하에서는 거의 에탄올이 생산되지 않았고 6시간부터 바이오에탄올이 생산되는 특성을 나타내었다. 홍조류인 김과 우뚝가사리는 바이오에탄올 생산량이 가수분해시간이 증가할수록 증가하여 김은 6시간에 최대가 되며 우뚝가사리는 8시간 또는 그 이상에서 최대가 될 가능성을 있었다. 해조류의 환원당 생성량이 다시마를 제외하고는 모두 가수분해시간 4시간에 최대값을 나타내었다는 사실(Fig. 4)과 비교할 때, 녹조류인 파래와 청각만이 최대의 환원당이 생성되는 가수분해 조건에서 최대의 바이오에탄올 생산량을 얻을 수 있었고, 갈조류와 홍조류는 오히려 환원당이 과분해되는 조건인 가수분해 6시간 이상의 조건에서 바이오에탄올 생산량이 증가하는 특이성을 보였다. 이는 해조류별로 바이오에탄올로 전환되는 기질 성분이 다르기 때문으로 판단된다. 즉, 녹조류의 경우 육상식물과 유사하게 대부분의 탄수화물이 셀룰로오스와 전분질로 이루어져 있는데 반해, 갈조류와 홍조류는 자일란이나 캐러기난, 만난과 같은 헤미셀룰로오스 성분과 알긴산, 라미나란, 한천(agar) 등 고분자 다당류로 이루어져 있다⁽²⁶⁾. 따라서 녹조류의 가수분해에서는 주로 글루코오스가 생성되어 에탄올 전환을 위한 주된 기질로 이용되는 반면 갈조류와 홍조류의

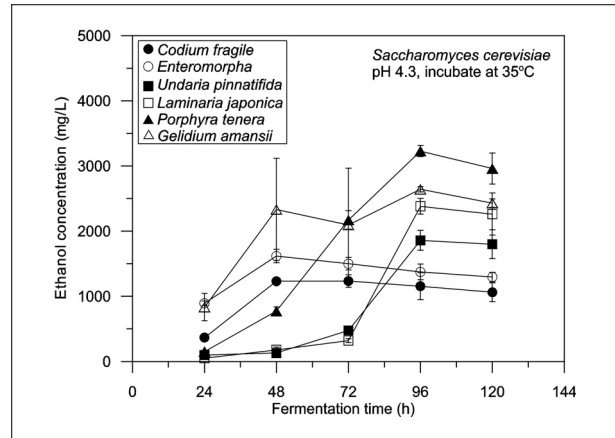


Fig. 7 Kinetics of Ethanol production from hydrolysates of seaweeds as a function of fermentation time. The hydrolysates were prepared with 0.5N H₂SO₄ at 130°C for 8h

가수분해에서는 갈락토오스, 자일로오스, 만노스 등의 환원당은 물론 비환원당 및 올리고당류가 생성되어 이들이 에탄올 전환을 위한 기질로 사용되었기 때문에 판단된다. 즉, 갈조류와 홍조류에서는 가수분해시간이 길어질수록 단당류는 과분해 되지만 에탄올 전환기질로 활용될 수 있는 비환원당류 또는 올리고당류의 생성이 증가되어 에탄올 생산량이 증가했다고 볼 수 있다.

3.2 해조류별 에탄올 발효 특성

3.2.1 적정 발효시간

Fig. 7은 각 해조류별 0.5N 황산-가수분해물에 대한 발효 시간별 에탄올 농도 변화를 보여주고 있다. 녹조류에 속하는 파래와 청각의 가수분해물은 발효시간이 증가할수록 에탄올 농도가 증가하여 48시간에 최대값을 보인 후 약간 감소하는 경향을 보인 반면 홍조류인 김의 가수분해물은 에탄올 농도가 96시간까지 계속 증가한 후 120시간에 감소하는 반면 우뚝가사리의 가수분해물은 경우에 따라 48시간과 96시간에 피크가 나타나는 등 불안정한 경향을 보였다. 갈조류인 미역과 다시마의 가수분해물은 72시간 이후 에탄올 농도가 급격히 증가한 후 96시간에 최대값에 이르는 특성을 나타내었다. 이처럼 해조류별로 에탄올 생산을 위한 발효시간이 다르게 나타나는 이유는 아직 불분명하지만 각 조류를 구성하는 탄수화물의 조성 차이와 관련이 있을 것으로 추측된다. 즉, 녹

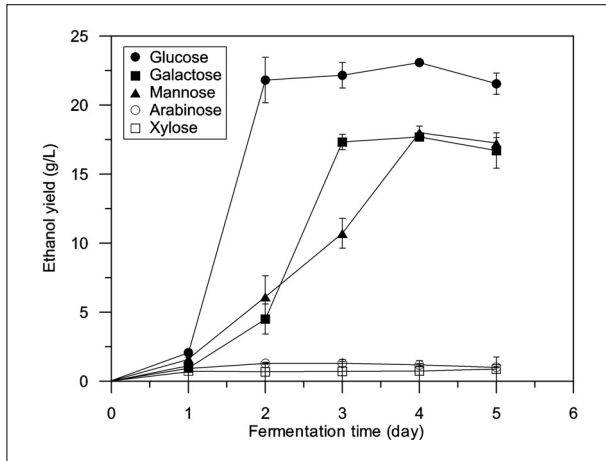


Fig. 8 Ethanol production from monosaccharides using *Saccharomyces cerevisiae* as a function of fermentation time

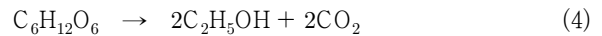
조류는 엽록소에 의해 광합성을 한다는 점에서 육상식물과 같다. 따라서 다른 해조류에 비해 셀룰로오스와 전분계의 탄수화물이 풍부하다⁽²⁷⁾. 한편 갈조류와 홍조류는 셀룰로오스 함량이 적고 대신에 갈조류는 알긴산(alginate)과 후코이단(fucoidan), 홍조류는 자일렌(xylans), 만난(mannan), 한천(agar)과 케러기난(carrageenan) 등이 주성분을 이루고 있다. 따라서 가수분해에 의해 생성되는 환원당 역시 녹조류의 경우 주로 글루코오스인데 반해 갈조류와 홍조류의 경우 갈락토오스와 자일로오스가 주종을 이룰 것으로 예측되며, 이러한 환원당의 차이가 조류별 발효시간을 지배하는 요인으로 작용했을 것으로 판단된다. 류정곤 등은 우뚝가사리를 이용한 에탄올 생산에서 *S. cerevisiae*에 의한 갈락토오스의 에탄올 발효가 글루코오스에 비해 상당히 느리다고 보고한 바 있다⁽²⁸⁾. 대표적인 단당류를 대상으로 *S. cerevisiae*에 의한 에탄올 발효시간을 검토한 결과(Fig. 8), 글루코오스 수용액의 에탄올 농도는 발효시간 24시간 이후 48시간까지 급격히 증가한 후 거의 일정해지는 경향을 보였다. 이는 Ge 등⁽²⁹⁾이 제시한 글루코오스 발효 결과와 일치한다. 이에 반해 갈락토오스와 만노오스는 각각 72시간과 96시간에서 에탄올 농도가 최대가 되어 글루코오스에 비해 에탄올 발효가 24~48시간 정도 지연되는 특성을 보였다. 한편 C₅-당인 아라비노오스와 자일로오스는 혐기성 조건에서 *S. cerevisiae*에 의해 거의 발효되지 않음을 확인할 수 있다.

이상의 결과를 종합하면, 최대의 에탄올을 생산하기 위한 발효시간은 녹조류 가수분해물의 경우 48시간으로 글루코오

스와 동일하지만, 갈조류와 홍조류 가수분해물의 경우 만노오스와 동일한 96시간 정도가 적정함을 알 수 있다.

3.2.2 환원당의 에탄올 전환 특성

바이오매스를 이용하여 에탄올을 생산하기 위해서는 가수분해공정을 통해 고분자 다당류인 세포 구성물질을 발효 가능한 환원당 즉, 단당류 내지는 이당류로 전환시켜야 한다. 글루코오스, 갈락토오스, 만노오스 등과 같은 C₆-당은 효모에 의해 발효되어 다음 반응식과 같이 에탄올로 전환된다.



위 반응에 따라서, 이론적인 최대 생산량은 글루코오스 1kg당 바이오에탄올 0.51kg이다. 물론 해조류의 가수분해물은 이들 성분 외에 만니톨(mannitol)과 같은 비환원당류나 올리고당류를 포함하기 때문에 효모발효에 의한 바이오에탄올 전환 반응식은 훨씬 더 복잡하겠지만, 대략적으로 환원당의 에탄올 전환률은 최대 50% 정도로 추정할 수 있다. 이를 바탕으로 가수분해에 의해 생성된 환원당이 모두 글루코오스라고 가정하고 환원당 대비 에탄올 전환율을 계산한 결과, 환원당을 기질로 활용하여 생산할 수 있는 에탄올보다 녹조류는 1.5배, 갈조류는 4배, 홍조류는 1.9배 이상 더 많은 에탄올이 생산되었음을 알 수 있었다. 이처럼 가수분해에 의해 해조류로부터 생성된 환원당을 기질로 활용하여 생산할 수 있는 에탄올보다 훨씬 많은 에탄올이 생산되었다는 사실은 환원당 뿐만 아니라 가수분해액에 용해되어 있는 비환원당이나 부분적으로 가수분해된 올리고당류 역시 에탄올 생산을 위한 기질로 이용되었음을 의미한다. 이성목과 이재화는 *S. cerevisiae* 효모를 이용한 다시마의 산-가수분해물의 발효과정에서 오히려 환원당의 농도가 증가하였다고 보고한 바 있다⁽¹⁶⁾. 당질계와 전분질계와 같은 제1세대 바이오에탄올 공정은 물론 육상식물인 리그노셀룰로오스계를 사용하는 제2세대 바이오에탄올 공정의 경우 환원당 대비 에탄올 생산량은 이론값과 거의 일치한다는 사실은 이미 수많은 연구를 통해 입증되어 있다⁽²⁹⁻³²⁾. 이와 달리 해조류를 사용하는 제3세대 바이오에탄올 공정의 에탄올 생산수율은 가수분해를 통해 생성된 환원당 보다는 에탄올 생산 기질로 이용 가능한 올리고당류나 만니톨과 같은 비환원당류에 의해 지배되는 특성을 나타내었다.

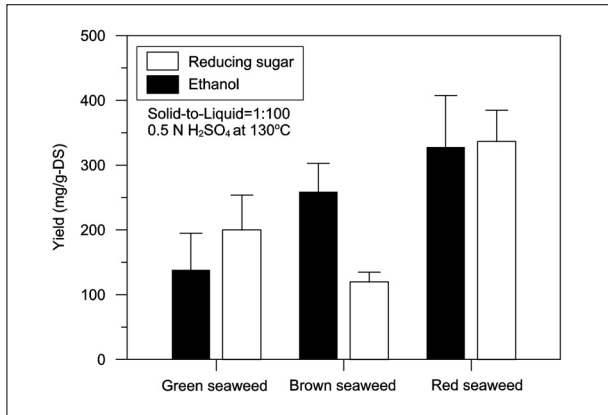


Fig. 9 Average yields of reducing sugar and bioethanol from green, brown and red seaweeds after acid hydrolysis and subsequent enzymatic fermentation

3.2.3 해조류별 바이오에탄올 생산성

황산 촉매 가수분해와 에탄올 발효공정을 통해 얻을 수 있는 환원당 생성수율과 바이오에탄올 생산수율을 녹조류, 갈조류 및 홍조류로 대분하여 각각의 평균과 표준편차를 Fig. 9에 요약하여 비교하였다. 최대 에탄올 생산수율은 해조류의 종류에 관계없이 0.5N 황산수용액을 촉매로 이용할 때 얻을 수 있었으며, 녹조류인 파래와 청각은 130°C에서 4시간 가수분해하고 35°C에서 48시간 발효시키는 조건에서 138±37mg/g-DS, 갈조류인 다시마와 미역은 동일한 조건으로 8시간 가수분해시키고 96시간 발효시키는 조건에서 258±29mg/g-DS, 홍조류인 김과 우뚝가사리는 6시간(김)~8시간(우뚝가사리) 가수분해시키고 96시간 발효시키는 조건에서 343±53mg/g-DS 이었다. 이는 녹조류의 경우 건조물 1톤당 약 140kg, 갈조류의 경우 건조물 1톤당 약 260kg, 홍조류의 경우 건조물 1톤당 약 340kg의 에탄올을 생산할 수 있음을 의미한다. 각 해조류별 에탄올 생산수율은 김(369±13mg/g-DS) > 우뚝가사리(316±9mg/g-DS) > 다시마(272±3mg/g-DS) ≥ 미역(248±39mg/g-DS) > 파래(176±64mg/g-DS) > 청각(108±10mg/g-DS) 순으로 높게 나타났다. 바이오에탄올 생산에 이용되는 타 원료와 비교할 때 해조류의 바이오에탄올 생산수율은 제1세대 바이오에탄올 원료인 사탕수수(80L/ton)에 비해 높고 옥수수(410L/ton)에 비해 낮았으며⁽¹⁾ 제2세대 바이오에탄올 원료인 리그노셀룰로오스계의 이론적 에탄올 생산수율, corn stover, rice straw, wheat straw 280~290L/ton과 비슷한 수준이었다⁽³³⁾.

국내 해조류 생산성은 아직 체계적인 연구가 이루어지지 않아 정확하게 추산하기는 어렵다. 최근 제시된 해조류의 추정 생산량과 생산비용은 건중량 기준으로 미역이 20톤/ha/년으로 10~50천원/톤, 다시마가 40톤/ha/년으로 10~20천원/톤(전복사료용 기준), 김이 2~4톤/ha/년으로 10,000~20,000천원/톤이었다⁽³⁴⁾. 또한 류정곤 등은 “해조류 바이오산업화를 위한 전략 및 정책방향” 연구에서 우리나라의 해조류 생산량이 적은 이유가 주로 해조류 수요의 부족에 기인한 것으로 보고 새로운 수요가 발생한다면 우리나라 연안에서 양식 가능한 해조류의 양은 지금보다 훨씬 늘어날 수 있으며, 양식면적 1ha당 홍조류 200톤(건조 중량 66톤)을 생산할 수 있을 것으로 내다보았다⁽²⁸⁾. 따라서 바이오에탄올 산업과 같은 대량 수요처가 구축될 경우 해조류의 생산량은 현재의 생산성에 비해 훨씬 증가될 수 있을 것으로 예상된다.

이상의 결과로 미루어 해조류를 이용하는 제3세대 바이오에탄올은 육상식물에 비해 해조류의 생산성이 2~4배 높고 이산화탄소의 저감 효과가 높다는 점⁽⁸⁻¹⁰⁾을 고려할 때 제1세대와 제2세대 바이오에탄올을 대체할 수 있는 미래의 에너지 원으로 그 가능성이 충분하다고 판단된다.

4. 결론

해조류의 바이오에탄올 생산능력을 평가하기 위해 녹조류인 파래와 청각, 갈조류인 다시마와 미역, 홍조류인 김과 우뚝가사리를 대상으로 가수분해공정과 효모발효공정을 적용시켜 본 결과, 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- (1) 황산 촉매 가수분해에 의한 해조류의 용해율은 80~90%로 가수분해시간이 증가할수록 증가하였으나 대체로 가수분해시간 4시간 이후에는 그 증가폭이 감소하였다. 환원당 생성량은 다시마를 제외하고는 모두 가수분해 4시간에서 최대값을 나타낸 후 감소하였다.
- (2) 환원당 생성량과는 달리 최대의 바이오에탄올 생산량을 얻을 수 있는 가수분해시간은 녹조류인 파래와 청각의 경우 4시간, 갈조류인 다시마와 미역의 경우 8시간, 홍조류인 김과 우뚝가사리의 경우 6~8시간으로 나타나, 녹조류를 제외하고는 모두 최대 환원당 생성시간보다 길었다.

- (3) 해조류 가수분해물의 에탄올 발효는 순수 단당류인 글루코오스에 비해 지연되었으며, 적정 에탄올 발효시간은 녹조류 48시간, 갈조류와 홍조류 96시간이었다.
- (4) 해조류 가수분해물의 바이오에탄올 생산량은 환원당으로부터 전환될 수 있는 이론적 생산 가능량에 비해 1.5~4배 이상 많아 환원당 생성량만으로 해조류의 바이오에탄올 생산성을 평가할 수 없었다. 이는 해조류를 사용하는 제3세대 바이오에탄올 공정의 에탄올 생산수율이 가수분해를 통해 생성된 환원당보다는 에탄올 생산 기질로 이용 가능한 올리고당류나 만니톨과 같은 비환원당류에 의해 지배되고 있음을 시사하였다.
- (5) 0.5N 황산 수용액을 촉매로 이용하여 130°C에서 4~8시간 가수분해하고 *S. cerevisiae*를 효모로 첨가하여 35°C에서 48~96시간 발효시키는 조건에서 건조중량당 녹조류는 138±37kg/ton, 갈조류는 258±29kg/ton, 홍조류는 343±53kg/ton의 바이오에탄올을 생산할 수 있었다. 각 해조류별 에탄올 생산수율은 김>우뭇가사리≥다시마>미역>파래>청각 순으로 높았다.
- (6) 이들 해조류 중 갈조류는 생산속도가 빠르고 생산량이 많을 뿐만 아니라 5,000kg/ha/년 이상의 바이오에탄올 생산수율을 얻을 수 있어 바이오에탄올 생산을 위한 해양 바이오매스 자원으로 가장 유리하였다.

후 기

본 과제(결과물)는 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 광역경제권 선도산업 인재양성사업의 연구결과입니다.

References

- [1] M. Balata, H. Balata, C. Öz, 2008, "Progress in bioethanol processing", Prog. Energy and Combustion Sci., Vol. 34, pp. 551-573.
- [2] P. Nigam, A. Singh, 2011, "Production of liquid biofuels from renewable resources", Prog. Energy Combust. Sci., Vol. 37, pp. 52-58.
- [3] R.E.H. Sims, W. Mabee, J.N. Saddler, M. Taylor, 2011, "An overview of second generation biofuel technologies", Bioresource Technol., Vol. 101, pp. 1570-1580.
- [4] J.P. Delgenes, R. Moletta, J.M. Navarro, 1990, "Acid-hydrolysis of wheat straw and process considerations for ethanol fermentation by *Pichia Stiptitis* Y7124", Process Biochemistry, Vol. 25, pp. 132-135.
- [5] B.K. Ahring, K. Jensen, P. Nielsen, A.B. Bjerre, A.S. Schmidt, 1996, "Pretreatment of wheat straw and conversion of xylose and xylan to ethanol by thermophilic anaerobic bacteria", Bioresource Technology, Vol. 58, pp. 107-113.
- [6] J.N. Nigam, 2001, "Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stiptitis*", Journal of Biotechnology, Vol. 87, pp. 17-27.
- [7] B.C. Saha, L.B. Iten, M.A. Cotta, Y.V. Wu, 2005, "Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol", Process Biochemistry, Vol. 40, pp. 3693-3700.
- [8] Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert, 2008, "Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances", Plant J., Vol. 54, pp. 621-639.
- [9] X. Zhang, Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Puruhito, Y. Chen, 2010, "Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes", Bioresource Technol., Vol. 101, pp. 5297-5304.
- [10] A. Singh, P.S. Nigam, J.D. Murphy, 2011, "Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels", Bioresource Technol., Vol. 102, pp. 10-16.
- [11] M. Aresta, A. Dibenedetto, G. Barbeiro, 2005, "Utilization of macro-algae for enhanced CO₂ fixation and biofuels production: development of a computing software for an LCA study", Fuel. Process. Technol., Vol. 86, pp. 1679-1693.
- [12] C.S. Goh, K.T. Lee, 2010, "Conceptual macroalgae-based thirdgeneration bioethanol (TGB) biorefinery in Sabah, Malaysia as an underlay for renewable and sustainable development", Renew. Sustain. Energy Rev., Vol. 14, pp. 842-848.
- [13] G. Guerriero, J. Fugelstad, V. Bulone, 2010, "What do we really know about cellulose biosynthesis in higher plant?", J. Integrative Plant Biology, Vol. 52, pp. 161-175.
- [14] K. Okuda, K. Oka, A. Onda, K. Kajiyoshi, M. Hiraoka, K. Yanagisawa, 2008, "Hydrothermal fractional pretreatment

- of sea algae and its enhanced enzymatic hydrolysis”, J. Chem. Technol. Biot., Vol. 83, pp. 836–841.
- [15] S.J. Horn, I.M. Aasen, K. Østgaard, 2000, “Production of ethanol from mannitol by *Zymobacter palmae*”, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., Vol. 24, pp. 51–57.
- [16] 이성목, 이재화, 2010, “산 농도 및 염 농도가 다시마 에탄올 발효에 미치는 영향”, Appl. Chem. Eng., Vol. 21, pp. 154–161.
- [17] X. Wang, X. Liu, G. Wang, 2011, “Two-stage hydrolysis of invasive algal feedstock for ethanol fermentation”, J. Integrative Plant Biology, Vol. 53, pp. 246–252.
- [18] G.L. Miller, 1959, “Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars”, Anal. Chem., Vol. 31, pp. 426–428.
- [19] M. Chen, J. Zhao, L. Xia, 2009, “Comparison of four different chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility”, Biomass and Bioenergy, Vol. 33, pp. 1381–1385.
- [20] Van Groenestijn J., Hazewinkel O., Bakker R., 2006, “Pretreatment of lignocellulose with biological acid recycling (Biosulfurol process)”, Zuckerindustrie, Vol. 131, pp. 639–641.
- [21] L. Dawson, R. Boopathy, 2008, “Cellulosic ethanol production from sugarcane bagasse without enzymatic saccharification”, Bio. Resour. Vol. 3, pp. 452–460.
- [22] S. Abedinifar, K. Karimi, M. Khanahmadi, M.J. Taherzadeh, 2009, “Ethanol production by *muco* *indicus* and *rhizopus oryzae* from rice straw by separate hydrolysis and fermentation”, Biomass and Bioenergy, Vol. 33, pp. 828–833.
- [23] S.C. Rabelo, R.M. Filho, A.C. Costa, 2009, “Lime pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production”, Appl. Biochem. Biotechnol., Vol. 153, pp. 139–150.
- [25] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y.L.M. Holtzapple, M. Ladisch, 2005, “Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass”, Bioresource Technol., Vol. 96, pp. 673–686.
- [26] E. Percival, 1979, “The polysaccharides of green, red and brown seaweeds: Their basic structure, biosynthesis and functions”, British Phycological Journal, Vol. 14, pp. 103–117.
- [27] J. Arne, 1993, “Present and future needs for algae and algal products”, Hydrobiologia, Vol. 260, pp. 15–23.
- [28] 류정곤, 조정희, 김대영, 2009, “해조류 바이오산업화를 위한 전략 및 정책방향”, 한국해양수산개발원, 정책연구자료.
- [29] L. Ge, P. Wang, H. Mou, 2011, “Study on saccharification techniques of seaweed wastes for the transformation of ethanol”, Renewable Energy, Vol. 36, pp. 84–89.
- [30] R. Harun, M.K. Danquah, 2011, “Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production”, Process Biochemistry, Vol. 46, pp. 304–309.
- [31] P. Polycarpou, 2009, “Bioethanol production from *Asphodelus aestivus*”, Renewable Energy, Vol. 34, pp. 2525–2527.
- [32] K. Ohgren, R. Bura, G. Lesnicki, J. Saddler, G. Zacchi, 2007, “A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover”, Process Biochemistry, Vol. 42, pp. 834–839.
- [33] S. Kim, B.E. Dale, 2004, “Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues”, Biomass and Bioenergy, Vol. 26, pp. 361–375.
- [34] 김경수, 2007, “해조류를 이용한 바이오에너지 생산 타당성 연구”, GOVP1200819997, 산업자원부.

나 춘 기



1985년 전북대학교 자원공학과 공학사
1987년 전북대학교 자원공학과 공학석사
1991년 일본 쓰쿠바대학 지구과학 이학석사
1994년 일본 쓰쿠바대학 지구과학 이학박사

현재 목포대학교 환경공학과 교수
(E-mail : nack@mokpo.ac.kr)

송 명 기



2005년 목포대학교 환경공학과 공학사
2007년 목포대학교 환경공학과 공학석사
2011년 목포대학교 환경공학과 공학박사

현재 목포대학교 환경공학과 시간강사
(E-mail : kaynyy@lycos.co.kr)

손 창 인



2002년 목포대학교 환경공학과 공학사
2004년 목포대학교 환경공학과 공학석사

현재 한국환경공단 에너지사업단 연구원
(E-mail : sci@keco.or.kr)