

# 홍조류, 갈조류, 녹조류를 이용한 바이오에탄올 생산 및 폐 해조류 슬러리의 중금속 생물흡착

선우인영<sup>1</sup>, 라채훈<sup>1</sup>, 권성진<sup>1</sup>, 허지희<sup>1</sup>, 김예진<sup>2</sup>, 김지우<sup>2</sup>, 신지호<sup>2</sup>, 안은주<sup>2</sup>, 조유경<sup>3</sup>, 김성구<sup>1\*</sup>

## Ethanol Production from Red, Brown and Green Seaweeds and Biosorption of Heavy Metals by Waste Seaweed Slurry from Ethanol Production

InYung Sunwoo<sup>1</sup>, ChaeHun Ra<sup>1</sup>, SeongJin Kwon<sup>1</sup>, JiHee Heo<sup>1</sup>, Ye-Jin Kim<sup>2</sup>, JiWoo Kim<sup>2</sup>, JiHo Shin<sup>2</sup>, En-Ju Ahn<sup>2</sup>, YuKyeong Cho<sup>3</sup>, and Sung-Koo Kim<sup>1\*</sup>

Received: 25 September 2014 / Accepted: 18 November 2014

© 2014 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** The seaweeds with high carbohydrate ratio *Gelidium amansii*, *Saccharina japonica* and *Enteromorpha intestinalis* were used as red, brown, and green seaweeds, respectively. Thermal acid hydrolysis, enzymatic saccharification and fermentation were carried out using those seaweeds to produce ethanol. The ethanol concentrations from red, brown and green seaweed were 14.8 g/L, 11.6 g/L and 9.9 g/L, respectively. After the production of ethanol, the seaweeds were reused to absorb heavy metal. The maximum biosorption ratio was Cu(II) (89.6%), Cr(III) (82.9%), Ni(II) (66.1%). Cu(II) had the highest affinity with 3 waste seaweeds. Red seaweed was verified the most effective substrates to both process.

**Keywords:** Seaweed, Ethanol, Biosorption, Heavymetal, Waste seaweeds

### 1. INTRODUCTION

현재 화석연료의 고갈, 고유가 극복 그리고 기후 변화 협약 등으로 화석연료를 대체할 수 있는 대체에너지 개발에 많은 연구가 진행되고 있다 [1]. 대체에너지 중 각광을 받고 있는 바이오에탄올은 지금까지 1세대로서 곡물류, 2세대로서 목재류를 사용 하였다. 하지만 곡물류는 단가가 비싸고 식량이라는 점이 도덕적으로 문제가 되었고, 목재류는 리그닌에 의한 셀룰로오스의 분해저해 그리고 바이오매스 확보에도 큰 어려움을 겪고 있다 [2,3]. 제 3세대 바이오매스로서 해조류는 빠른 생산속도, 낮은 경작지 사용율, 높은 CO<sub>2</sub> 흡수율 그리고 무엇보다 음식과 경쟁하지 않는다는 점에서 가장 적합한 바이오매스로 각광받고 있다 [1].

해조류는 홍조류, 갈조류 그리고 녹조류로 구성되어있으며, 탄수화물이 에탄올 생산의 주가 된다. 탄수화물을 구성하는 당 및 함량은 해조류의 종류에 따라 다양하다 [4]. 그 중 홍조류는 갈조류와 녹조류에 비해 높은 탄수화물을 함유하고 있으며 그 다음으로 갈조류, 녹조류 순으로 높은 탄수화물을 함유하고 있다. 이러한 해조류의 탄수화물을 이용한 에탄올 생산은 전처리, 당화 그리고 발효를 거쳐 진행된다. 생산이 끝난 해조류는 생물학적 흡착제로 이용한 연구가 증가함에 따라 중금속 폐수에 흡착제로 이용하여 다양한 중금속에 대한 흡착을 살펴보고자 하였다.

여러 중금속 중 크롬 (Cr), 니켈 (Ni), 구리 (Cu), 수은 (Hg), 카드뮴 (Cd), 코발트 (Co), 망간 (Mn), 납 (Pb), 셀레늄 (Se),

<sup>1</sup>부경대학교 생물공학과

<sup>1</sup>Department of Bioengineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Tel: +82-51-629-5868, Fax: +82-51-629-5863

e-mail: skkim@pknu.ac.kr

<sup>2</sup>성모여자고등학교

<sup>2</sup>Saint Mary's Girls' High School, Busan 614-753, Korea

<sup>3</sup>(재)부산테크노파크해양생물산업육성센터

<sup>3</sup>Busan Technopark Marine Bioindustry Development Center, Busan 619-912, Korea

아연 (Zn) 등은 생태계에 영향을 끼치는 중금속으로 생태계에 유입된 중금속들은 먹이연쇄를 통해 축적되어 인간과 동물에게 전달되어 인체에 심각한 독성을 유발한다 [5]. 따라서 폐수 내 중금속을 제거하기 위한 효과적인 방법이 절실히 요구되고 있다. 현재 도금공장이나 광산 등에서 대량 발생하는 중금속 폐수를 처리하기 위해 침전법, 이온교환법 등 여러 기술들이 개발되어 사용되고 있으나 이들은 전처리와 2차오염이 문제된다 [6]. 그러므로, 표면의 음전하로 인하여 중금속에 대한 높은 흡착능력을 보유하고 있고, 중금속의 선택적인 제거가 가능하며 상온에서 조작되므로 비용이 절감되는 생물물질에 중금속을 흡착 시키는 바이오흡착제를 많이 이용하고 있다. 특히 해조류는 중금속 흡착 성능이 우수하며 다른 유기물에 방해받지 않으며 양이 풍부하여 구하기가 쉽고 가격이 저렴하다는 점에서 중금속 생물학적 흡착제로 많은 연구가 이루어지고 있다 [5].

본 실험에서는 *Gelidium amansii* (우뭇가사리), *Saccharina japonica* (다시마) 그리고 *Enteromorpha intestinalis* (파래)를 이용하여 바이오에탄올을 생산하였다. 전처리는 황산을 처리하여 열산가수분해를 여러 슬러리농도, 산농도 그리고 열처리시간에 대해 진행하였다. 효소처리는 여러 가지 효소를 단일 혹은 혼합하여 효소당화를 하였다. 효소당화를 마친 슬러리는 최적효모를 이용한 발효를 통해 에탄올을 생산하고 각각의 해조류에 대한 에탄올생산의 최적조건을 확립하였다. 에탄올 생산 후 폐기되는 슬러리는 재사용하여 중금속 폐수와 함께 폐 해조류 슬러리농도 10~130 g/L 범위에서 최적조건을 확립하였고, 이를 각각의 해조류에 대해 비교하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 실험재료

본 실험에서는 에탄올 발효를 위해 홍조류로 *G. amansii*, 갈조류로 *S. japonica* 그리고 녹조류로는 *E. intestinalis*를 사용하였다. 세종은 모두 탄수화물 함량이 다른 종에 비해 높았다 [7]. 사용되는 해조류는 자연건조 후 분쇄기로 갈아서 입자크기가 355 μm (45 mesh) 이하의 분말을 사용하였다. 구성

성분 분석은 부경대학교 사료영양연구소에 의뢰하여, Table 1에 나타낸 바와 같이 AOAC 방법에 의해 분석을 실시하였다 [8,9].

2.2. 에탄올생산

에탄올생산을 위해 열산가수분해, 효소당화 그리고 균주에 의한 발효과정을 수행하였다. 열산가수분해의 최적조건을 설정하기 위해 250 mL flask에서 working volume 100 mL로 하여 해조류의 농도 범위는 6~10%로 하였다. 황산의 농도 범위는 0.06~0.22 N로 설정하였고 열처리 시간은 121°C에서 30~120분간 처리하였다.

효소당화를 진행하기 위해 열산가수분해를 실시한 해조류 시료를 사용하였다. 사용한 효소 Celluclast 1.5 L (endo-glucanase, Novozymes), Viscozyme L (beta-glucanase, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark), Spirizyme fuel (Glucosylase, Novozymes)를 단일 혹은 혼합하여 16 unit/mL로 하여 사용하였다. 효소반응은 pH 5.0, 40°C, 150 rpm으로 48시간동안 효소당화를 실시하였다. 효소당화와 열산가수분해의 처리효율( $E_{PS}$ , %)은 다음 식 (1)로 나타낼 수 있다 [10].

$$E_{PS}(\%) = \frac{\Delta S_{mono}}{TC} \times 100 \tag{1}$$

여기서,  $\Delta S_{mono}$ 는 열산가수분해 및 효소당화에서 생성되는 monosaccharide의 농도 (g/L)이며, TC는 총 탄수화물 (total carbohydrate) 함량 (g/L)이다.

에탄올 발효는 3종의 균주를 사용하여 진행되었다. 사용한 균주는 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1126를 *G. amansii*에 *Pichia angophorae* KCTC 17574를 *S. japonica*에 그리고 *Candida lusitanae* ATCC 42720를 *E. intestinalis*에 사용하였다. Seed culture는 YPG broth (yeast extract 10.0 g/L, peptone 20.0 g/L, galactose 50.0 g/L)를 250 mL flask에서 working volume 100 mL로 하여 48시간 동안 배양하였다. 최종 균 농도가 0.35 g dcw/L로 접종한 후 30°C, 120 rpm으로 5일 동안 배양을 하면서 일정 시간마다 시료를 채취하였다. 모든 에탄올생산과정에서의 시료채취는 1593 × g에서 10분 동안 원심 분리 후 분리된 상층액을 HPLC로 측정하여 glucose, galactose, ethanol을 분석하였다. 에탄올 수율 ( $Y_{EtOH}$ , g/g)은 다음

Table 1. Composition of various seaweeds

Species	Seaweed	Composition (%)			
		Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Carbohydrate
Red seaweed	<i>Gelidium amansii</i>	18.30	0.03	7.40	74.40
	<i>Gelidium prisoides</i>	11.80	0.90	14.00	73.30
	<i>Gracilaria cervicornis</i>	22.96	0.43	7.72	68.68
Brown seaweed	<i>Saccharina japonica</i>	10.60	1.60	21.80	66.00
	<i>Sargassum filipendula</i>	8.27	0.00	44.29	47.44
	<i>Hijikia fusiforme</i>	9.80	1.20	41.50	47.50
Green seaweed	<i>Enteromorpha intestinalis</i>	31.60	1.80	29.20	37.40
	<i>Capsosiphon Fulvescens</i>	30.40	0.60	32.90	36.10
	<i>Ulva lactuca</i>	7.06	1.64	55.40	25.30

식으로 나타낼 수 있다.

$$Y_{EtOH} (g/g) = \frac{EtOH_{max}}{Sugar_{fermentable}} \quad (2)$$

여기서  $EtOH_{max}$ 는 에탄올 발효로 인해 생성되는 최종 에탄올의 농도 (g/L)이며,  $Sugar_{fermentable}$ 은 열산가수분해 및 효소당화로 생성되는 발효가능한 당의 농도 (g/L)이다.

### 2.3. 생물학적 흡착제 및 중금속 폐수

생물학적 흡착 실험에 사용된 해조류는 바이오에탄올 생산 후 남은 슬러리를 증류수로 2회 세척 후 동결건조 후에 분쇄하여 입자크기가 355  $\mu\text{m}$  (45 mesh) 이하의 분말을 사용하였다.

본 연구에 사용된 중금속 폐수는 대륙금속(주) (부산, 한국)에서 도금처리 후 배출되는 중금속 폐수를 공급받아 실험에 사용하였다.

### 2.4. 생물흡착

Cr(III), Ni(II) 및 Cu(II)의 중금속 농도가 각각 284.6 mg/L, 125.0 mg/L 그리고 79.7 mg/L인 중금속 용액 100 mL을 흡착 최적 pH인 pH 5로 맞추어 사용하였다 [5]. pH 조절에는 5 N HCl과 5 N NaOH를 사용하였다. 이후 흡착제로 에탄올 생산 후 폐 해조류 슬러리를 10~130 g/L을 넣고 shaking incubator에서 30°C, 150 rpm으로 흡착 최적 평형 시간인 2시간 동안 흡착시켰다 [5]. 그 후 25 mL의 시료를 취하여 5000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 1:10으로 희석하여 ICP-MS를 사용하여 중금속 농도를 측정하였다. 측정된 중금속 농도를 이용하여 중금속 흡착률(%)은 다음 식으로 나타낼 수 있다.

$$Biosorption\ ratio = \frac{Heavymetal\ concentration_f}{Heavymetal\ concentration_i} \times 100 \quad (3)$$

여기서,  $Heavymetal\ concentration_i$ 는 초기 중금속 농도 (g/L) 이고  $Heavymetal\ concentration_f$ 는 최종 중금속 농도 (g/L)

이다.

### 2.5. 분석방법

단당 (glucose, galactose, mannitol)과 에탄올 측정은 HPLC (Agilent 1100 Series, Agilent, Inc., Santa Clara, USA)와 RID (refractive index detector)를 이용하였다. 컬럼은 Biorad Aminex HPX-87H column (300.0×7.8 mm)를 사용하여 온도를 65°C, 이동상 5 mM 황산, 유속 0.6 mL/min으로 하여 각 시료를 35분간 분석하였다 [11].

중금속 농도 측정은 ICP-MS (Perkin elmer (Shelton, USA), Optima 7300DV, Nexion 300D)와 electron multiplier (detector)를 이용하였다. ICP system의 RF power는 1300 W로 하였고, plasma gas glow rate는 18.3 L/min, nebulizer gas flow rate는 0.97 L/min 그리고 auxiliary gas flow rate는 1.2 L/min으로 하여 분석하였다 [12].

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 해조류 성분분석

거대해조류 중 홍조류, 갈조류 그리고 녹조류로서 *G. amansii*, *S. japonica* 그리고 *E. intestinalis*를 각각의 대표 종으로 사용하였다. 해조류들을 AOAC방법으로 분석한 결과 Table 1과 같이 *G. amansii*의 경우 74.4%, *S. japonica*의 경우 66.0% 그리고 *E. intestinalis*의 경우 37.4%의 탄수화물을 함유하고 있었다. 이 결과는 세종이 각각의 그룹에서 탄수화물의 함량이 높아 에탄올 생산 실험에 적합한 바이오매스라고 판단되어 사용하였다 [7].

### 3.2. 해조류의 전처리 및 효소 당화

해조류의 다당들을 이용하여 발효당을 최대 생산하기 위해 열산가수분해와 효소당화의 최적조건을 확립하였다. Table 2에서는 *G. amansii*, *S. japonica* 그리고 *E. intestinalis*의 열산가수분해와 효소당화의 최적조건을 나타내었다. 다양

**Table 2.** Summary of thermal acid hydrolysis and enzymatic saccharification

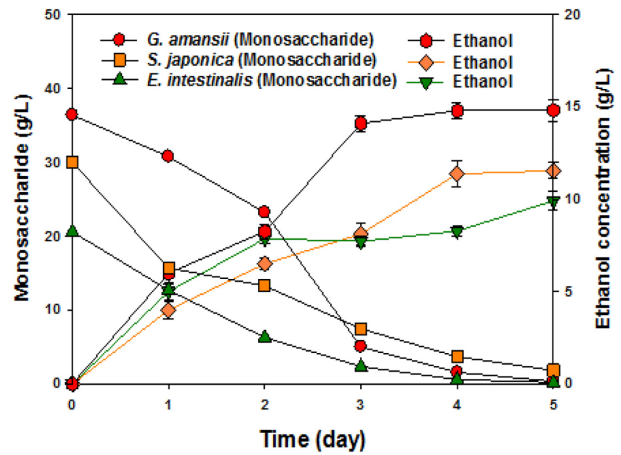
Experiment	Condition	Monosaccharide concentration (g/L)	Efficiency of pretreatment and saccharification ( $E_{ps}$ , %)
Thermal acid hydrolysis	8% (w/v) <i>G. amansii</i> in 0.05N $H_2SO_4$ , 121°C, 90 min	25.0	42.0
	8% (w/v) <i>S. japonica</i> in 0.09N $H_2SO_4$ , 121°C, 60 min	20.0	37.0
	8% (w/v) <i>E. intesinalis</i> in 0.09N $H_2SO_4$ , 121°C, 60 min	10.0	33.0
Enzymatic saccharification	Hydrolyzed <i>G. amansii</i> with mixture of Celluclast and Viscozyme	36.4	61.0
	Hydrolyzed <i>S. japonica</i> with mixture of Spirizyme and Celluclast	29.9	64.0
	Hydrolyzed <i>E. intestinalis</i> with mixture of Celluclast and Viscozyme	20.2	69.0

한 해조류 농도, 황산농도 그리고 열처리 시간에 따른 열산가수분해 결과 홍조류인 *G. amansii*의 경우 8% (w/v)의 해조류 농도, 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 121°C에서 90분의 열처리 시간에서 25.0 g/L의 당당을 생산해 내었다. 이는 초기 탄수화물 농도와 비교했을 때 42%의 전처리 효율을 나타내었다. *S. japonica*와 *E. intestinalis*의 경우에도 홍조류와 같이 8% (w/v)의 해조류 농도에서 가장 높은 당당을 생산하였다. 그러나 홍조류와는 달리 황산농도는 0.18 N 그리고 열처리 시간은 121°C에서 60분에서 *S. japonica*는 20.0 g/L 그리고 *E. intestinalis*는 10.0 g/L의 당당을 생산하였다.

열산가수분해를 최적 전처리 조건으로 실시한 후 5 N NaOH를 이용하여 pH 5.0으로 중화한 후 효소당화를 진행하였다. 단일 효소와 혼합 효소를 이용하여 최종 농도를 16 unit/mL로 사용하였다. 세 가지 해조류 모두 두 효소를 섞은 혼합 효소를 이용한 결과 가장 높은 당당을 생산하였다. *G. amansii*의 경우 Celluclast 1.5L과 Viscozyme L을 섞은 혼합 효소에서 *S. japonica*의 경우 Spirizyme fuel과 Celluclast 1.5L을 섞은 복합효소에서 그리고 *E. intestinalis*의 경우 Celluclast 1.5L과 Viscozyme L을 섞은 복합효소에서 각각 36.4 g/L, 29.9 g/L, 20.6 g/L의 당당을 생산하였고, 효소당화의 효율 (E<sub>PS</sub>, %)는 61.0, 64.0, 69.0으로 확인되었다. 이로써 Ahn et al. [13]이 보고한 바와 같이 단일효소보다는 혼합 효소를 이용한 가수분해가 당화효율을 높이는 시너지 효과가 있음을 확인하였다.

**3.3. 효모를 이용한 에탄올 발효**

각각의 해조류로부터 바이오에탄올을 생산하는 최적효모의 선정은 바이오에탄올의 생산정도에 의해 결정되었다. 이 결과 *G. amansii*의 경우 *S. cerevisiae*, *S. japonica*의 경우 *P. angophorae* 그리고 *E. intestinalis*의 경우 *C. lusitaniae*가 최적의 균주로 판단되었다. 이는 각각의 균주가 가진 특성과 관계가 있다. 이전 연구에서 *S. cerevisiae*의 경우에는 높은 glucose와 galactose의 이용으로 에탄올을 생산하며, *P. angophorae*의 경우 mannitol과 glucose를 이용하여 에탄올을 생산하며, *C. lusitaniae*의 경우 glucose와 cellobiose를 이용하여 에탄올을 생산하는 특징이 보고되었다 [14-16]. 이들의 특징은 각각의 해조류의 특징과 부합하여 최적의 균주로 선정되었다. Fig. 1은 각각의 해조류를 최적의 균주로 30°C, 200 rpm에서 5일간 배양한 결과를 나타낸 그래프이다. 또한 Table 3에서는 발효가 가능한 당과 에탄올 생산 결과를 이용하여 에탄올 생산수율 (Y<sub>EtOH</sub>)을 나타낸 표이다. 결과 *G. amansii*의 경우 14.8 g/L의 에탄올을 생산하였고 효율은 0.41로 나타났다. *S. japonica*의



**Fig. 1.** Ethanol production from 3 different seaweeds using shaking incubator: 30°C, 200 rpm for 5 days, (red circle) Monosaccharide from *G. amansii*, (brown square) Monosaccharide from *S. japonica*, (green triangle up) Monosaccharide from *E. intestinalis*, (red hex) Ethanol from *G. amansii*, (brown triangle down) Ethanol from *S. japonica*, (green diamond) Ethanol from *E. intestinalis*.

경우 11.6 g/L의 에탄올을 생산하였으며 그 효율은 0.31로 나타났다. *E. intestinalis*의 경우 9.9 g/L의 에탄올을 생산하였으며 에탄올 생산효율은 0.48로 나타났다. 그 결과 에탄올 생산 결과 해조류를 에탄올 생산량에 따라 나열하면 홍조류, 갈조류 그리고 녹조류 순으로 나열할 수 있으며 홍조류가 바이오에탄올 생산에 가장 적합한 바이오매스라고 판단된다.

**3.4. 중금속 폐수를 이용한 생물흡착**

Cr(III), Ni(II) 및 Cu(II)의 초기 중금속농도가 각각 284.6 mg/L, 125.0 mg/L 그리고 79.7 mg/L가 혼합된 중금속 폐수에 폐 해조류 슬러리를 10~130 g/L로 조절하여 흡착실험을 진행하였다. Fig. 2는 중금속초기농도에 대해 3종의 폐 해조류 슬러리 양을 변화시켜 흡착성능을 나타낸 그래프이다. Fig. 2(a)는 초기농도가 284.6 mg/L로 가장 높았던 Cr(III)을 폐 해조류 슬러리와 함께 흡착한 결과이다. *G. amansii*와 *E. intestinalis*의 경우 폐 해조류 슬러리 양에 비례하여 흡착이 증가하였으며, *S. japonica*의 Cr(III) 흡착결과는 폐 해조류 슬러리 110 g/L에서 가장 높은 흡착정도를 보인 후 130 g/L이후에는 중금속농도가 다시 증가하였다. 이는 갈조류가 110 g/L에서 최적으로 중금속을 흡착하는 것을 확인 할 수 있었다. Fig. 2(b)는 초기 농도가 125.0 mg/L인 Ni(II)을 폐 해조류 슬러리와 함께 흡착한 결과이다. *G. amansii*, *S. japonica* 그리고 *E. intestinalis* 모

**Table 3.** Results of ethanol production from red, brown and green seaweeds

Seaweeds	Yeast	Fermentable monosaccharide concentration (g/L)	Ethanol concentration (g/L)	Yield of Ethanol production (Y <sub>EtOH</sub> )
<i>Gelidium amansii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	25.0	42.0	0.41
<i>Saccharina japonica</i>	<i>P. angophorae</i>	20.0	37.0	0.31
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	<i>C. lusitaniae</i>	10.0	33.0	0.48

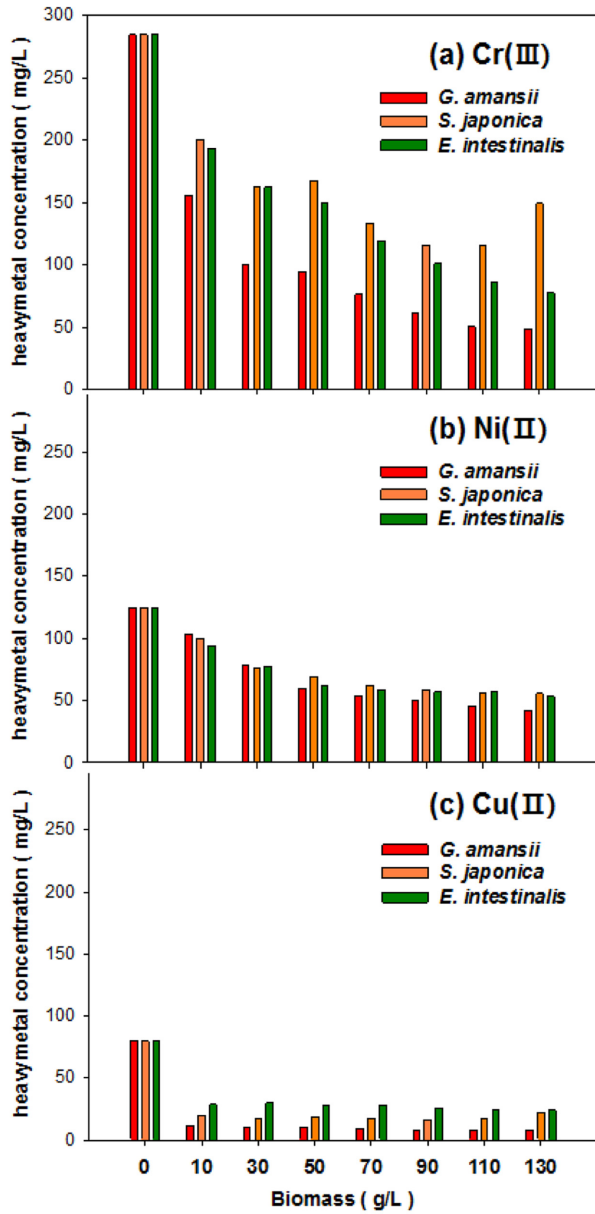


Fig. 2. Biosorption of heavymetal (a) Cr(III), (b) Ni(II) and (C) Cu(II) by various waste seaweeds.

두 폐 해조류 슬러리 양을 증가시킬수록 흡착량은 증가하였지만 서로 큰 차이는 보이지 않았다. Fig. 2(c)는 초기농도가 79.7 mg/L인 Cu(II)를 폐 해조류 슬러리와 함께 흡착한 결과이다. 세 종의 폐 해조류 모두 10 g/L 이후 평형을 이루는 것을 확인하였고, Cu(II)에 대한 흡착능은 홍조류, 갈조류 그리고 녹조류 폐 해조류 슬러리 순으로 나타났다. 중금속폐수로 흡착 실험을 한 결과를 흡착률로 나타낸 Table 4에서는 각각의 해조류의 중금속에 대한 선택성을 확인할 수 있었다. 그 결과 중금속의 최대 흡착률은 세 종의 중금속 모두 *G. amansii* 폐 해조류 슬러리 130 g/L와 흡착한 결과로 Cu(II) (89.6%), Cr(III) (82.9%), Ni(II) (66.1%) 순으로 나타나 금속이온의 종류에 따라 흡착률이 다른 것을 알 수 있었다. 이는 해조류의 중금속 선택성은 중금속과 결합하는 리간드의 형태, 세포벽의 생체고분자의 구성성분, 중금속의 이온반경 등과 같은 물리, 화학, 생물학적 특성으로 인하여 중금속에 대한 친화도가 달라졌기 때문이라고 판단된다 [17]. 이로써 동일한 조건에서 폐 해조류 슬러리로 중금속 (Cr(III), Ni(II), Cu(II)) 흡착을 할 경우 Cu(II)가 우선적으로 흡착됨을 확인하였다. 세 종의 중금속 모두 폐 해조류 슬러리 함량에 따라서 중금속농도는 감소되나 구리의 경우 소량의 폐 해조류 슬러리에도 흡착 평형이 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 이는 Davis et al. [17]의 연구에 따르면 혼합 중금속 용액에서 중금속이온들은 해조류의 작용기와 결합하게 되는데 이 때 결합되는 양이온 양은 각각의 양이온 마다 다르게 나타나며, 이를 양성자들의 결합부위에 대한 경쟁이라고 설명하고 있다. 이러한 경쟁은 stereochemical effects에 의한 더 무거운 이온들의 선호 결합 때문에 상대적으로 선호결합도가 큰 구리가 소량의 폐 해조류 슬러리에서도 빠른 흡착을 나타내었다.

또한 세 종의 중금속 모두 *G. amansii* 폐 해조류 슬러리를 사용했을 때 가장 높은 흡착률을 나타냈다. Murphy et al. [18]에 따르면 중금속 흡착 메커니즘은 해조류의 세포벽에 존재하는 여러 작용기 (hydroxyl, carboxyl기 등)의 음전하가 중금속의 양전하와 결합하여 정전기 상호작용 또는 이온결합을 한다고 보고한다. 또한 이전의 연구에 따르면 세 종의 해조류 중 갈조류의 세포벽에 존재하는 alginate, fucoidan 등의 구성성분인 carboxyl, sulfate기 및 이들의 유도체가 중금속흡착

Table 4. Biosorption ratio of Cr(III), Ni(II) and Cu(II) by different waste seaweeds concentration

Seaweed	Waste seaweed contents								
	(g/L)	heavymetal	10	30	50	70	90	110	130
Red seaweed ( <i>G. amansii</i> )	Cr(III) (%)	<b>45.1</b>	64.5	66.6	73.1	78.4	82.1	<b>82.9</b>	
	Ni(II) (%)	17.0	37.3	52.4	56.9	60.1	63.4	66.1	
	Cu(II) (%)	<b>85.2</b>	<b>86.8</b>	<b>87.5</b>	<b>88.1</b>	<b>89.5</b>	<b>89.8</b>	<b>89.6</b>	
Brown seaweed ( <i>S. japonica</i> )	Cr(III) (%)	<b>29.4</b>	42.7	41.1	53.2	59.2	59.2	<b>47.5</b>	
	Ni(II) (%)	20.4	39.0	44.4	50.4	52.9	54.8	55.6	
	Cu(II) (%)	<b>74.6</b>	<b>78.7</b>	<b>76.3</b>	<b>78.4</b>	<b>79.4</b>	<b>78.2</b>	<b>72.1</b>	
Green seaweed ( <i>E. intestinalis</i> )	Cr(III) (%)	<b>32.0</b>	43.0	47.4	58.2	64.3	69.7	<b>72.8</b>	
	Ni(II) (%)	25.1	38.1	50.9	52.9	54.5	54.3	57.2	
	Cu(II) (%)	<b>64.0</b>	<b>62.0</b>	<b>64.5</b>	<b>65.0</b>	<b>57.5</b>	<b>69.8</b>	<b>70.0</b>	

을 높이며 갈조류를 가장 우수한 생물흡착제로 보고하였지만 [18], 본 실험에서는 바이오에탄올 생산 후 에탄올로 변환된 당들을 제외한 폐 해조류 슬러리를 사용했다는 점에서 홍조류가 가장 우수한 중금속 흡착제로 판단된다 [17]. 그러므로 본 연구 결과, 에탄올 생산 후 폐기되는 슬러리를 재사용하여 중금속흡착에 사용함으로써 홍조류가 에탄올 생산 및 중금속흡착에 가장 우수한 바이오매스라는 결론을 내릴 수 있었다.

#### 4. CONCLUSION

본 연구에서는 *G. amansii*, *S. japonica* 그리고 *E. intestinalis*를 이용하여 열산가수분해, 효소당화 그리고 3종의 균주로부터 바이오에탄올 생산의 최적조건을 확립하는 연구를 수행하였다. 또한 에탄올 생산 후 폐기되는 해조류를 재사용하여 도금공장에서 배출되는 폐수의 중금속을 흡착하는 연구를 진행하였다. 바이오에탄올 생산의 최적 조건은 *G. amansii*의 경우 8% (w/v) 슬러리와 0.1 N의 황산을 이용하여 121°C에서 90분간 열처리 후 Celluclast 1.5L과 Viscozyme L을 섞은 혼합효소를 이용한 조건에서, *S. japonica*와 *E. intestinalis*의 경우 8% (w/v) 슬러리와 0.18 N의 황산을 이용하여 121°C에서 60분간 열처리 후 *S. japonica*의 경우 Celluclast 1.5L과 Spirizyme Fuel의 혼합효소에서, 또한 *E. intestinalis*의 경우 Celluclast 1.5L과 Viscozyme L을 섞은 혼합효소를 이용하여 효소당화 한 결과 각각 36.4 g/L, 29.9 g/L 그리고 20.6 g/L의 monosaccharide를 얻었다. 에탄올 발효를 한 결과 *G. amansii*를 *S. cerevisiae*로 발효하여 14.8 g/L의 에탄올을 얻었으며, 생산수율( $Y_{\text{EtOH}}$ )은 0.41로 나타났고, *S. japonica*를 *P. angophorae*로 발효하여 11.6 g/L의 에탄올을 얻었으며,  $Y_{\text{EtOH}}$ 은 0.34를 나타냈다. *E. intestinalis*를 *C. lusitaniae*로 발효하여 9.9 g/L의 에탄올을 얻었으며  $Y_{\text{EtOH}}$ 은 0.48을 얻었다. 이 결과로 홍조류에서 가장 높은 농도의 에탄올을 생산하였다. 이후 Cr(III), Ni(II) 그리고 Cu(II)가 함유된 폐수에 폐기되는 슬러리를 10°C에서 130 g/L로 조절하여 흡착실험한 결과 세종의 해조류 모두 슬러리양을 증가시킬수록 흡착은 증가하는 것으로 나타났다. Cu(II)의 경우 10 g/L의 *G. amansii* 폐 해조류 슬러리를 첨가하여도 85.2%의 흡착률을 보이며 가장 높은 친화도를 확인할 수 있었다. 또한 세 종의 폐 해조류 중 홍조류가 가장 높은 흡착능을 나타내었다. 이결과로서 홍조류가 바이오에탄올 및 바이오흡착에 가장 적합한 바이오매스라고 판단된다.

#### Acknowledgements

이 논문은 2014년도 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No. 2013R1A1A2059095).

이 논문은 2014년 정부재원 (미래창조과학부 여대학(원)생공학연구팀제 사업)으로 한국연구재단과 한국여성과학기술인지원센터의 지원을 받아 연구되었습니다.

#### REFERENCES

1. Lee, S. M., I. S. Choi, S. K. Kim, and J. H. Lee (2009) Production of bio-ethanol from brown algae by enzymic hydrolysis. *KSBB J.* 24: 483-488.
2. Saha, B. C. and M. A. Cotta (2007) Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. *Enzyme Microb. Technol.* 41: 528-532.
3. Hahn-Hagerdal, B., M. Galbe, M. F. Gorwa-Grauslund, G. Liden, and G. Zacchi (2006) Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol.* 24: 549-556
4. Jeong, G. T. and D. H. Park (2011) Production of levulinic acid from marine algae *Codium fragile* using acid-hydrolysis and response surface methodology. *KSBB J.* 26: 341-346.
5. Suh, K. H., H. S. Lee, and J. H. Suh (2000) Biosorption and development of biosorbent by using seaweed, *Sargassum thunbergii*. *J. Korean Fish. Soc.* 33: 60-65
6. Suh, K. H., K. H., Ahn, M. C. Cho, B. J. Kim., H. J. Jin, and Y. K. Hong (1998) Biosorption of Pb and Cu by marine algae. *KSBB J.* 13: 444-448.
7. Marinho-Soriano, E., P. C. Fonseca, M. A. A. Carneiro, and W. S. C. Moreira (2006) Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresour. Technol.* 97: 2402-2406.
8. AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1995) In: Cunniff, P. (Ed), *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
9. Sanchez-Machado, D. I., J. Lopez-Cervantes, P. Paseiro-Losada, and J. Lopez-Hernandez (2004) Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chem.* 85: 439-444.
10. Ra, C. H., H. J. Lee, M. K. Shin, and S. K. Kim (2013) Bioethanol production from seaweed *Gelidium amansii* for Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF). *KSBB J.* 28: 282-286.
11. Cho, Y. K., H. J. Kim, and S. K. Kim (2013) Bioethanol production from brown seaweed, *Undaria pinnatifida*, using NaCl acclimated yeast. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 36: 713-719.
12. Bates, L. C. and J. W. Olesik (1990) Effect of aerosol transport rate on inductively coupled plasma emission and fluorescence. *J. Anal. At. Spectrom.* 5: 239-247.
13. Ahn, D. J., S. K. Kim, and H. S. Yun (2012) Optimization of pretreatment and saccharification for the production of bioethanol from water hyacinth by *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 35: 35-41.
14. Horn, S. J. (2000) *Bioenergy from brown seaweeds*. Doctor Thesis, Department of Biotechnology, Norwegian University of Science and Technology NTNU, Trondheim.
15. van Maris, A. J., D. A. Abbott, E. Bellissimi, J. van den Brink, M. Kuyper, M. A. Luttik, H. W. Wisselink, W. A. Scheffers, J. P. Van

- Dijken, J. T. Pronk (2006) Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae* current status. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 90: 391-418.
16. Freer, S. N. and R. W. Detroy (1983) Characterization of cellobiose fermentations to ethanol by yeasts. *Biotechnol. Bioeng.* 25: 541-557.
17. Davis, T. A., B. Volesky, and H. J. Mucci (2003) A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* 37: 4311-4330.
18. Murphy, V., H. Hughes, and P. McLoughlin (2008) Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass. *Chemosphere*. 70: 1128-1134.