

고압액화공정을 이용한 구멍갈파래의 발효용 알코올 당화수율 증진

한재건¹ · 오성호¹ · 최운용¹ · 권정웅² · 서현범³ · 정경환³ · 강도형⁴ · 이현용^{1,5*}

¹강원대학교 바이오산업공학부, ²건국대학교 응용생물과학과, ³충주대학교 식품생명공학부, ⁴한국해양연구원, ⁵강원대학교 생명공학연구소

Enhancement of Saccharification Yield of *Ulva pertusa kjellman* for Ethanol Production through High Temperature Liquefaction Process

Jae Gun Han¹, Sung Ho Oh¹, Woon Yong Choi¹, Kwon Jung Woong², Hyeon Beom Seo³, Kyung Hwan Jeong³, Do Hyung Kang⁴, and Hyeon Yong Lee^{1,5*}

¹School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., Chuncheon 200-701, Korea

²Department of Applied BioSciences, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

³Department of Food and Biotechnology, Chungju University, 123 Geodan-ri, Iryu-myun, Chungju, Chungbuk 380-702, Korea

⁴Korea Ocean Research & Development Institute, Ansan, Gyeonggi 426-744, Korea

⁵Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon Natl. Univ., Chuncheon 200-701, Korea

Abstract Green alga, *Ulva pertusa kjellmann* has been known to be one of the largest pollutants in Korea. Therefore, the efficient pretreatment processes have been required to improve the yields of fermentable sugar. The optimal pretreatment conditions were determined to be 195°C for 15 min. The sugar yield of glucose and xylose were estimated as 20.5%, and 5.0% respectively, based on theoretical yields. However solid residues were estimated enzymatic digestibility of 90-95% with cellulase loading of 15 FPU/g glucan. This process was proved to generate the low concentration of Hydroxy-Methyl-Furfural (51 ppm), which resulted in ethanol production with 95% of the maximum conversion yield from glucose in the culture of *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC, 24858). This study showed that *Ulva pertusa kjellmann* can be used as a bioethanol resource using the high temperature liquefaction process.

Keywords: *Ulva pertusa kjellmann*, pretreatment, fermentable sugar, HMF, ethanol production

서 론

바이오 매스는 광합성으로 생성된 탄수화물류로 최근에 값싼 재생자원을 이용하여 생물학적 물리화학적 방법으로 연료를 생산하려는 연구가 활발히 진행되고 있다 [1]. 그러나 리그노 셀룰로직 바이오 매스의 경우, C-C와 C-O-C로 연결되어 물에 대항하여 매우 안정적인 불용성 난분해성고분자

화합물로 셀룰로스와 헤미셀룰로스의 분해를 막는다 [2]. 따라서 리그닌 구조 결합이 다른 육상자원에 비해 약하며 에탄올 생성당인, 글루코스가 풍부한 해조류는 곡물류나 목재류와 같은 원료에 비해 에너지 수율, 리터당 생산비 등에서 높은 경제적 효과를 가지고 있다 [3]. 또한 식량자원고갈 및 자연파괴와 같은 부정적요소가 낮으며 해수 부영양화로 인한 과잉번식 하며 해양오염 문제를 야기하고 있는 해조류를 바이오 에탄올의 원료로 사용한다면 경제적 및 친환경 효과를 가져 올 수 있다 [4-7].

녹조류인 구멍갈파래 (*Ulva pertusa kjellman*)는 국내에서 녹조현상으로 환경문제를 야기하고 있으며, 폐기를 위해

*Corresponding author

Tel: +82-33-250-6455, Fax: +82-33-250-6560

e-mail: hyeonl@kangwon.ac.kr

자본 및 인력이 소비되고 있는 실정이다. 따라서 글루코스가 풍부한 해조류인 구멍갈파래를 이용하여 바이오 에탄올을 생산한다면 해양오염 문제와 에너지 문제를 동시에 해결할 수 있을 것으로 본다. 그러나 해조류는 기존 에탄올 전처리 기법인 산이나 알칼리에 비교적 안정하고 특수한 세균 효소에 의하지 않고서는 분해되기 어려워 이용이 에탄올 당화물질 생산에 제한적이다 [8].

따라서 위의 문제 해결을 위해 환경적으로 문제가 없는 물을 이용한 고온 추출 공정시 시료가 받는 온도와 수증기 압력이 증가함에 따라 상온에서 반응하는 일반 물과 다르게 반응하여 유전상수는 감소하고 이온강도는 증가한 상태가 되어 해조류에서 당 가수분해 반응을 유발할 수 있다 [9-11]. 이런 원리를 이용하여 해조류의 세포벽이 파괴되고 물의 출입이 용이하여 시료의 당화성분 추출이 단시간에 가능하며, 불순물이 없으며 추출효율을 증진시킬 수 있을 것으로 사료된다 [9-11]. 특히 해조류인 구멍갈파래의 경우 구성당의 대부분이 ligno-cellulosic 구조가 아닌 복합 다당류 형태로 구성되어 있기 때문에 이 같은 고온 공정을 이용시, 산/알칼리 전처리 공정 중 필연적으로 생성되는 furfural, 5-hydroxy methylfurfural (HMF) 등의 효모 성장저해 물질이 생성을 감소시킬 수 있을 것이다 [12]. 따라서 본 연구에서는 고압액화 공정을 이용해 기존 바이오 에탄올 용 육상자원과 구조적으로 크게 다른 해조류로부터 에탄올 발효가 가능한 당화물의 생산성 증진에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

실험재료

제주도에서 수확한 (2008년) 구멍갈파래를, 열풍건조기 40°C에서 48시간 건조한 후 불밀로 미세한 분말상태로 분쇄하였다.

방법

고압액화기를 이용한 구멍갈파래 가수분해

고압액화장치의 모식도는 Fig. 1에 제시하였다. 1 L-주 반응기 (heat reactor), 질소가스 주입용 부스터 (booster), 온도계 (TG), 압력계 (PG)로 구성되어 있으며 안전장치로 3개의 밸브 (valve)로 구성되어 있다.

1 L의 반응기에 10 g의 구멍갈파래와 증류수 100 mL의 혼합하였다. 이후 온도 및 시간을 통한 반응조건을 조절하여 고온, 고압액화 반응시에 pH를 변화를 주어 당류 추출에 최대 반응 수율을 나타낼 수 있는 195°C 15분으로 하였으며 대조군은 같은 고온 조건으로 2% (w/v), 4% (w/v) 황산을 첨가하여 반응 시켰다 [13]. 반응 시킨 후 잔여물은 105°C 15분 건조하여 20°C, 65% 습도에서 보관하였다.

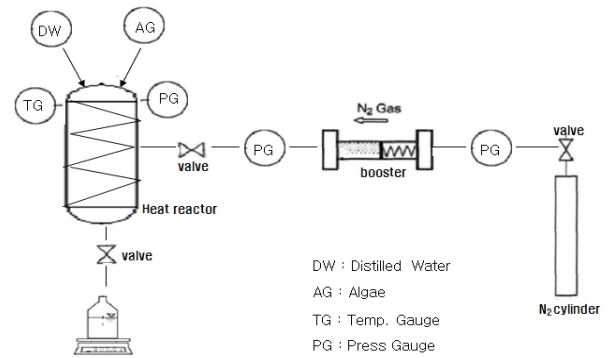


Fig. 1. Schematic diagram for batch type high pressure liquefying reactor.

구멍갈파래 조성분석

cellulose/hemi-cellulose 분석

건조된 구멍갈파래를 0.05 M acetic acid와 1.3% NaClO₂ 혼합용액을 75°C에서 1시간 반응 시킨 후, 10,000 rpm으로 10분동안 원심분리하여 상등액을 버린다. 증류수와 acetone으로 씻어낸 후, Dry Oven 110°C에서 48시간 동안 건조한다 (W₁, holocellulose).

500 mg의 holocellulose를 4 M NaOH 수용액에 2시간 동안 교반한다. 다시 증류수로 씻어낸 후에 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후, 상등액을 제거한 후 40 mL 10% acetic acid 수용액을 첨가한다. 다시 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후, 상등액을 제거 후 증류수로 씻어낸다. 잔여물을 다시 Dry Oven 110°C에서 48시간 동안 건조한다 (W₂, cellulose).

$$\text{hemi-cellulose} = W_1 - W_2 (\text{holo-cellulose} - \text{cellulose}) \quad (1)$$

구멍갈파래 발효용 단당류 조성 비교

건조된 구멍갈파래의 발효용 단당류 조성 분석은 구멍갈파래를 NaOH 용액에 100°C에서 3시간동안 반응시킨 후, H₂SO₄ 용액에서 120°C에서 24시간 동안 반응시킨다. 상기 가수분해액을 Trifluoroacetic Acid (TFA) 용액에 120°C 2시간 반응시키고 다시, NaOH 용액으로 중화하여 가수분해액의 당성분을 HPLC로 측정 (Waters 510, Waters, Milford, MA, USA, RI-detector (Waters 410))한다. 칼럼은 Carbohydrate analysis column (4.6×250 mm, Waters, Milford, MA, USA)이며 이동상은 80% acetonitrile을 2 mL/min 유속으로 흘러 분석하였다 [14].

가수분해물 5-Hydroxy Methylfurfural (HMF) 발효저해물질 농도 측정

발효저해 부산물 중 대표 물질인 5-hydroxy methylfurfural (HMF, sigma USA)를 기준물질로 하여 상기 조건의 가수

분해물을 0.2 μm 필터로 여과하여 HPLC로 (Dionex, USA) 분석하였다. 조건은 65°C에서 5 mM 황산을 전개용매로하여 0.5 mL/min의 유속으로 Aminex HPX-87H 컬럼 (Bio-Rad, USA)을 이용하여 HMF 기준 농도와 비교해 RI (refractive-index) detector로 분석하였다 [14].

고온전처리 잔유물의 효소처리

고온 전처리를 통해 액화된 가수분해물을 제외한 잔여물을 가지고 15 FPU/g 역가를 가진 cellulase (Cellubrix L, 96 IU FPA/mL; Novozyme A/S, USA) 처리를 시행하였다. 건조된 잔유물을 50°C에서 150 rpm 으로 sodium acetate buffer 용액 (pH 4.8) 100 mL에 24시간 반응 시킨 후, 잔유물 내 단당류 상태로 가수분해 된 에탄올 가능성 용 당화물을 HPLC를 이용해 분석하였다 [14].

가수분해물의 에탄올 발효

가수분해물의 에탄올 생산성 검증을 위하여 500 mL flask 에서 발효실험을 시행하였다. 종균은 *S. cerevisiae* (ATCC, 24858)을 사용하여, YPD (yeast extract 1%, peptone 2%, glucose 2%) 배지를 이용하여 shaking incubator (30°C, 150 rpm)에서 24시간 동안 배양하였다. Flask culture를 위해 기본 YPD 배지에서 glucose를 대신하고 최적조건 가수분해 당화물 100 mL에 yeast extract 1%, peptone 2%를 넣어 제조 하였다. 배지의 pH는 NaOH powder를 이용하여 5.5로 맞추며 5 mL (배양부피 10%)의 종균을 접종하여 shaking incubator (30°C, 150 rpm)에서 배양 하였다. 배양액의 에탄올 함량 측정을 위해 GC (HP-5890 II, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다. Flame Ionization Detector (FID)를 이용하여 오븐온도를 150°C, injector와 FID 온도는 250°C로 조절하였다. N₂를 carrier gas로 이용하였으며 50 mL/min 속도로하여 컬럼은 INNOWax column (30 m×0.32 mm, Agilent 19091N-113)을 사용하였다.

통계

모든 data는 평균 ± 표준편차 (Mean ± standard deviation)로 나타내었으며 SPSS program (ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용해 t-test로 검정하였다.

결과 및 고찰

구멍갈파래 당 조성 분석

구멍갈파래의 총당 및 구성당 조성의 결과를 Table 1에 나타내었다. 총당은 전체중량 38.4% (w/w) 였으며, 구멍갈파래의 단당류 중 에탄올 발효 가능당인 글루코스 농도의

분석비는 83.5%로 구멍갈파래 내에 존재하는 단당류 중에 가장 높은 비율을 차지 하였다.

Table 1. Analysis of cellulose/hemi-cellulose, total carbohydrate content and monosaccharide composition of *Ulva pertusa kjellmann*. (% , w/w)

cellulose*	hemi-cellulose*	total carbohydrate*	Monosaccharide composition*				
			Fuc	Xly	Man	Glu	Gal
6.7	16.8	38.4	-	15.4	1.1	83.5	0.1

* Each value is presented as the mean ± S.E. of three independent experiment. (*p < 0.05: significantly different from the control value)

따라서 구멍갈파래에서 얻을 수 있는 최대 글루코스 수율은 32.1 (% , w/w)로 이 수율은 세계적으로 연구되고 있는 바이오 에탄올 생산원료인 옥수수대의 최대 글루코스 수율인 36.1%와 비슷한 수치다 [20]. 따라서 기존효율적 가수분해 공정이 연구되어 얻어진 기술을 기존 육상자원이 아닌 해조류인 구멍갈파래에 접목하여 새로운 바이오 에탄올 생산이 가능 할 것으로 예상됨에 따라 해조류인 구멍갈파래에서는 세포벽을 구성하는 셀룰로스/헤미셀룰로스 외에 열수, 약산, 약칼리에 용출되지 않는 섬유단백질 구조를 해리 할 수 있는 전처리 당화 기술이 확립되어야 한다고 사료된다 [7]. 따라서 일반 열수 처리 조건 보다 높은 조건인 195°C 고온처리 조건을 이용하여 구멍갈파래의 가수분해 수율을 연구하였다.

또한 기존의 cellulosic 농산자원인 옥수수대 (cellulose: 37.2%, hemi-cellulose: 22.5%)와의 셀룰로스와 헤미-셀룰로스의 비교하였을 때, 낮은 수준의 셀룰로스/헤미셀룰로스 구조를 가지고 있다 [15].

이는 기존 cellulosic 농산 자원의 전처리 가수분해 공정 시 셀룰로스 및 헤미셀룰로스에서의 저분자화를 통해 보다 효율적이고 경제적인 에탄올 발효용 당의 가수분해가 가능한 것으로 사료되며, 리그닌이 없고 낮은 헤미셀룰로스 함량은 고온 전처리 및 cellulase 처리에서 섬유소의 결정성을 감소시키고 효소의 흡착면을 증대하여 셀룰로스와 헤미 셀룰로스 글루칸 (glucan), 자일란 (xylan) 구조를 글루코스 및 자일로스스로 전환하여 다당류의 가수분해 효율을 증가 시킬 수 있을 것이다. 또한 전처리 과정에서 생성되는 부산물은 효소공정에서 저해물질로 작용하여 생성을 최대한 억제 되어야 하는데 해조류인 구멍갈파래는 낮은 함량의 셀룰로스/헤미셀룰로스 구조로 furfural, 5-hydroxy methylfurfural (HMF) 등의 효모 성장저해 물질의 농도가 낮을 것이며 리그닌 (Lignin) 구조가 없기 때문에 기존 리그닌 가수분해 공정 시 유래되는 페놀계 방향족 물질의 생성이 없어 cellulase 가수분해 공정에서 에탄올 발효 가능 단당의 회수율이 높아 지고 에탄올 생산공정에서 최대 에탄올 생산이 가능할 것이다 [12].

위의 결과로 보아 지구 온난화 및 화석연료 고갈에 따른 대체 연료원의 하나인, 해조류 구멍갈파래의 효율적인 전처리 가수분해 공정을 통한 다면 바이오 에탄올 생산 가능성은 높다고 사료된다.

구멍갈파래 고온전처리 가수분해물의 수율

고온 및 산처리 조건에서 전처리한 구멍갈파래의 글루코스 및 자일로스의 가수분해 수율을 Fig. 1에 나타내었으며 고온의 조건에서 전처리 가수분해 잔유물을 cellulase 처리한 구멍갈파래의 당화 수율을 2%, 4% 황산 전 처리 공정과 비교한 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

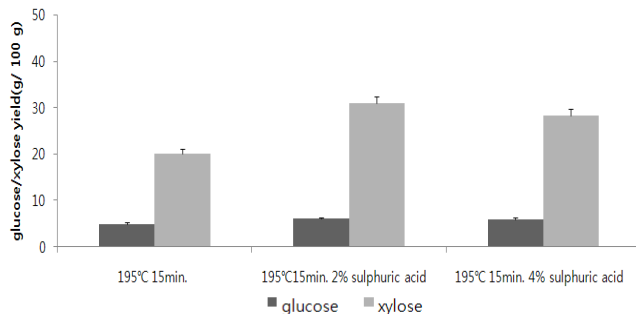


Fig. 2. Yield of glucose and xylose through high temperature process hydrolysate. Each value is presented as the mean \pm S.E. of three independent experiments.

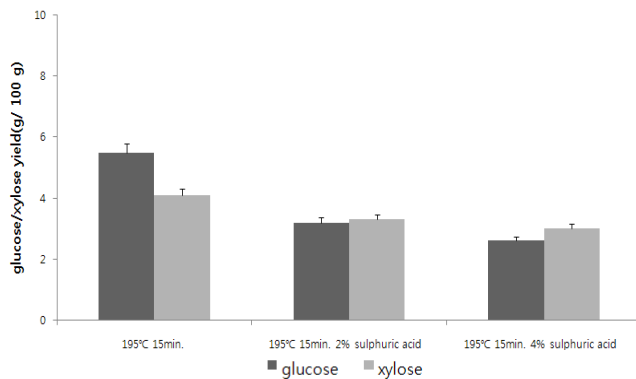


Fig. 3. Yield of glucose and xylose through enzymatic hydrolysate. Each value is presented as the mean \pm S.E. of three independent experiments.

수율 분석결과, 195°C 처리 조건에서 2%, 4%로 처리한 황산용액에서 195°C 고온처리 가수분해 처리 물 대비 자일로스 글루코스 각각 150%, 200% 정도의 수율을 나타내었다. 그러나 고온 및 고온, 황산 전처리 공정에서도 약산 전처리 공정에서처럼 에탄올 발효 직접당인 글루코스의 가수분해 수율은 2.0% 이하의 수율을 나타내었다.

Fig. 2의 cellulase를 통한 구멍갈파래 가수분해 잔유물의 후속 전처리 결과, 6.8%의 셀룰로스로 이루어져 있는 구멍갈파래에서 모든 황산 전처리 가수분해물을 제외한 모든 조건에서 90%를 전후로 높은 고 수율의 가수분해율을 나타내었다.

그러나 수율을 전처리 가수분해 공정과 가수분해 잔유물의 효소처리 시, 195°C 공정에서 전체 글루코스 가수분해 수율이 11.2% 대로 최대 글루코스 농도로 환산 시, 1.1 g/L (w/v)으로 낮은 농도이다. 그러나 산처리와 대비하여 낮은

효모생육저해물질의 농도로 황산 전처리 가수분해 공정보다 200% 이상의 높은 가수분해율을 나타내고 있으며 또한 바이오 에탄올 생산 공정시, 고 수율의 에탄올 생산과 빠른 시간에서의 에탄올 생산이 가능할 것으로 사료된다. 고온공정으로 인한 물리적인 힘에 의하여 cellulase와 셀룰로스 및 헤미셀룰로스의 흡착면을 증대 시키고 섬유소의 결정성을 감소 시켜 95%의 셀룰로스가 가수분해되어 고수율의 발효용 에탄올 용, 글루코스가 생산되었다.

Table 2는 고온 조건의 자일로스 및 글루코스 수율에 대비 하여 육상자원공정 중 옥수수대에서 Dilute sulfuric acid cycle spray flow-through pretreatment (DCF), flow through와 Partial flow-through 공정에서 에탄올용 당화물 생산 수율을 비교한 결과이다. 2% H₂SO₄ 용액, flow rate 8 L/min, 95°C, 103 Mpa, 60 min 의 조건에서 최대 31.9%의 xylose 회수율을 보이며 본 공정보다 저온 고압의 처리 공정이나 산처리로 인한 회수율의 증가로 xylose의 회수율이 10% 이상 높은 것으로 보이며 flow through와 Partial flow-through 연구에서는 200°C, 24 min에서 xylose 최대 회수율을 보여 본 연구에 대비 10% 이상의 높은 xylose 회수율의 차이를 보였다 [16-18]. 이는 200°C의 고온의 처리공정이나 부분 batch 공정의 도입으로 인한 수증기압의 상승으로 인한 충분한 섬유소의 물리적 파괴가 진행되어 가수분해가 충분히 진행된 것으로 사료 된다. 그러나 처리온도가 상승한 것에 기인되어 본 공정에서의 2%, 4% 황산 전처리와 DCF 전처리 법과 유사하게 섬유소의 물리적 파괴가 시작되고 아세틸 관능기가 유발되어 유기산은 헤미셀룰로스의 가수분해율을 높여 리그닌의 고분자 에테르 고분자 결합이 고온의 조건에서 분해되어 높은 양의 발효저해물질이 생성될 것으로 사료된다 [19].

Table 2. Comparison of xylose and glucose yields under various pretreatment conditions

Method	Sugar conversion yield				total sugar conc.***	
	Xylose	Glucose	Xylose	Glucose	Xylose	Glucose
high temp. liquefaction process	20.2	5.0	4.1	6.2	2.4	1.1
DCF Flow-through [†] (Lishi <i>et al.</i> , 2008)	31.9	2.9	1.5	35.0	0.7	1.3
Flow-through [†] (Liu and Wyman, 2005)	36.3	4.5	0.6	55.2	1.0	2.2
Partial flow-through [†] (Liu and Wyman, 2005)	33.6	4.3	0.7	52.6	1.0	2.0

* hydrolysate of conversion yield through pretreatment (% w/w).

** hydrolysate of conversion yield (% w/w) from solid residue through cellulase loading 15 FPU/g.

*** hydrolysate Conc. (concentration) (g/L, w/v).

[†] highest yield conditions of pretreatment under 2% H₂SO₄, flow rate 8 L/min, 95°C, 103 Mpa, reaction time 60 min.

[‡] highest yield conditions of pretreatment under water flow rate 10 mL/min, 200°C, reaction time 24 min.

글루코스의 경우 전처리물 분석의 경우 고온 처리만으로도 해조류에서 산처리 가수분해와 Table 2에서 DCF 공정을 제외한 다른 공정에서는 5.0% 로 비슷한 수율을 나타내었으나 가수분해 잔유물의 효소처리 공정 포함 가수분해율에서는 30% 이상의 수율의 차이 보였다. 이는 고온액화 공정 및 고온, 황산 전처리 가수분해 공정만으로는 구멍갈파래의 셀룰로스와 헤미 셀룰로스의 세포벽은 90% 이상 가수분해가 가능하나 고온액화 공정으로 만으로는 해조류의 다른 세포벽 구성성분인 복합 다당류의 가수분해가 원활하지 않음으로 구멍갈파래에서의 최대 에탄올 당화물 생산 수율에 도달하지 못한 것으로 사료된다. 따라서 고온공정과 동시에 고압, 초고압, 초음파 등의 복합공정 및 후속 cellulase 처리와 amyloglucosidase 복합효소 처리 공정 등이 고려 및 개발된다면 글루코스 최대 생성 수율에 도달 할 수 있을 것으로 보인다.

구멍갈파래 가수분해물 내 발효저해물질 농도 측정

구멍갈파래의 고온 전처리 및 고온, 황산 전처리 시, 실제로 HMF의 생성 여부를 확인 하고 자, 각 처리 물의 HMF 농도를 측정 하였다. 따라서 Fig. 4는 고온 가수분해 시 생성되는 대표적인 효소 활성 저해 및 발효 저해물질인 HMF를 지표물질로 하여, 각 처리 조건별로 생성된 HMF 농도를 비교해 보았다. 그 결과, 산처리 물에서 350% 이상의 높은 농도로 측정 되었으며 이는 기존의 다른 공정으로 처리시 현사시 목분을 415°C 초임계 전처리조건에서 생성된 1070 ppm 보다 현저히 낮은 수치이지만 효소활성을 감소하게 할 수 있는 농도로 사료된다 [19].

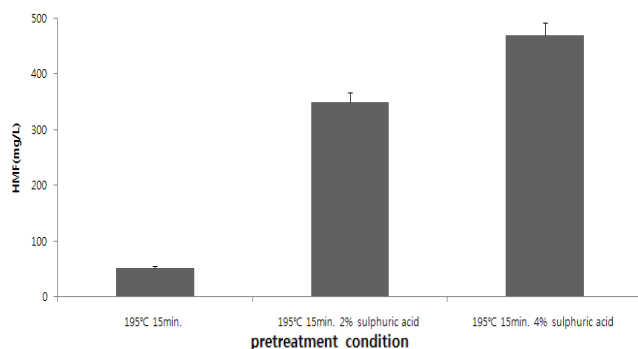


Fig. 4. HMF produced under different conditions. Each value is presented as the mean ± S.E. of three independent experiments. *, **, ***, p < 0.05: significantly different from the control value (*: 195°C 15 min., **: 1195°C 15 min. 2% sulphuric acid, ***: 195°C 15 min. 4% sulphuric acid).

따라서 본 연구에 사용된 처리 공정의 가수 분해물에서는 glucose 및 xylose 이외의 가수분해 전환물질인 HMF 생성으로 인한 cellulase 효소적응성 및 에탄올 발효에 문제가 없을 것으로 보인다. 이는 상대적으로 안전한 완만한 온도 상승과 증가로 인해 HMF 생성반응이 저해되고 결국 최종적으로 HMF 전환율이 감소한 것으로 사료된다.

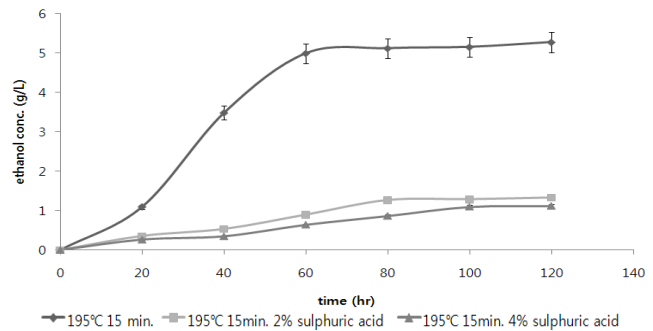


Fig. 5. Ethanol concentration of the liquors obtained from by high temp. liquefaction pretreatment. Each value is presented as the mean ± S.E. of three independent experiments.

구멍갈파래 가수분해물의 에탄올 발효 공정

구멍갈파래 고온 전처리 및 효소 처리에 의해 얻어진 가수 분해물을 10배 농축하여 글루코스 농도를 11.1 g/L로 맞추어 에탄올 발효 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 배양초기 20시간 동안은 195°C 15 min. 조건의 경우만 가수 분해물을 포함한 배지환경에 대한 효모의 적응시간으로 사료되며 20시간 이후 부터로는 에탄올 생성이 급격히 생성되어 에탄올의 농도는 같은 조건의 황산 처리물에 비하여 60시간까지 급속하게 60%까지 증가 하다가 100시간부터 95%대로 농도의 증가도가 감소하였다. 그러나 2%, 4%의 가수분해물의 경우 발효 저해물질로 인한 효소의 적응성이 떨어지며 효소의 역가가 감소하여 에탄올 발효에 영향을 미쳐 80시간내에서 195°C 15 min. 보다 40%정도 낮은 수율을 보였다. 이는 고온의 황산처리 조건에서 생성된 저해물질로 인하여 cellulase 뿐만이 아니라 *Saccharomyces cerevisiae*에서도 황산처리를 하지 않은 고온처리 가수분해물과 발효 패턴은 비슷하나 효소 생육저해 부산물인 HMF 등의 영향으로 효소적응성이 떨어져 글루코스 이차 대사 산물인 에탄올 생산 수율이 40% (1.33 g/L)대 로 감소한 것을 볼 수 있으며 고온 전처리 부산물의 경우 낮은 농도의 효소 생육저해 부산물로 인해 이론 대비 95% (5.27 g/L)까지의 에탄올 생성 수율을 보였다. 고온 처리시 농산 자원인 옥수수의 전처리 공정에 비하여 낮은 글루코스 가수분해율을 보였지만 non-ligno-cellulosic 구조로 인한 낮은 농도의 효소 생육저해 부산물 생성으로 섬유소 바이오매스의 전처리 과정에서 생산되는 효소 생육저해 부산물의 내성을 가지는 에탄올 효모균주 개발을 거치지 않아도, 기존 에탄올 발효 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 24858)로도 충분히 고수율의 에탄올 생산이 가능함에 따라 에탄올 생산 공정의 경제성, 효율성, 안정성 면에서 충분한 의미가 있다고 사료된다.

결론

구멍갈파래는 바이오 에탄올 생산 가능성이 높은 해조류

이나 에탄올 발효용 당의 가수분해가 어렵다. 따라서 본 공정에서는 고온 전처리 공정을 통하여 에탄올 당화액 생산 가능성을 연구 하였다. 구멍갈과래의 글루코스, 자일로스 최대 생산수율은 각각 32.06% (w/w), 5.91% (w/w)였으며 본 전처리 공정 (195°C, 15분)을 통하여 20.2% (w/w), 5.0% (w/w)의 자일로스, 글루코스 수율을 나타내었다. 후속처리 공정인 cellulase 효소처리 공정 (15 FPU/g)에서는 95% (w/w) 효과적인 cellulase 가수분해 반응을 나타내었다. 본 공정의 가수분해물에서는 51 ppm의 낮은 HMF 생성율을 나타내어 95%의 에탄올 수율을 나타내었다. 따라서 본 공정은 구멍갈과래의 에탄올 생산에 효과적인 공정으로 사료되며, 본 연구 결과를 통해 최적화 공정이 확립되어 해조류에서 고 수율의 에탄올 당화물 생산에 토대가 될 것으로 보인다.

감 사

본 연구는 한국해양연구원 (과제번호: PP00740)의 지원으로 수행 되었기에 심심한 사의 표합니다.

접수 : 2010년 4월 27일, 게재승인 : 2010년 8월 24일

REFERENCES

- Wright, L. (2006) Worldwide commercial development of bioenergy with a focus on energy crop-based project. *Biomass Bioenerg.* 30: 706-714.
- Saulnier, L., C. Marot, E. Chanliaud, and J. F. Thibault (1995) Cell wall polysaccharide interaction in maize bran. *Carbohydr. Polym.* 26: 279-287.
- Kloareg, B. and R. S. Quatrano (1988) Structure of the cell walls of marine algae and ecophysical function of the matrix polysaccharides. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 26: 259-315.
- Davis, T. A., B. Volesky, and A. Mucci (2003) A review of the bio-chemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* 37: 4311-4330.
- Yu, Q. and P. Kaewsarn (1999) A model for pH dependent equilibrium of heavy metal biosorption. *Korean J. Chem. Eng.* 16: 753-757.
- Lee, M. G., J. H. Lim, and S. K. Kam (2002) Biosorption characteristics in the mixed heavy metal solution by biosorbents of marine brown algae. *Korean J. Chem. Eng.* 19: 277-284.
- Munoz, R. and B. Guieysse (2006) Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminant: A review. *Water Res.* 40: 2799-2815.
- Sugano, Y., H. Kodama, I. Terada, Y. Yamajakiand, and M. Noma (1994) Purification and characterization of a novel enzyme, α -neogargarooligosaccharide hydrolase, from a marine bacterium, *Vibrio* sp. strain JT0107. *J. Bacteriol.* 176: 6812-6818.
- Fang, Z., T. Sato, R. L. Smith-Jr, H. Inomata, K. Arai, and J. A. Kozimski (2008) Reaction chemistry and phase behavior of lignin in high-temperature and supercritical water. *Bioresour. Technol.* 99: 3424-3430.
- Koo, S. Y., K. H. Cha, and D. U. Lee (2007) Effects of high hydrostatic pressure of foods and biological system. *Food Sci. Ind.* 40: 23-30.
- Zhang, S., J. Zhu, and C. Wang (2004) Novel high pressure extraction technology. *International Journal of Pharmaceutics* 278: 471-474.
- Gray, K. A., L. Zhao, and M. Emphage (2006) Bioethanol. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 10: 1-6.
- Mosier, N., R. Hendrickson, M. Ho, M. Sedlak, and M. R. Ladisch (2005) Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresour. Technol.* 96: 1986-1993.
- Linde, M., M. Galbe, and G. Zacchi (2008) Bioethanol production from non-starch carbohydrate residues in process stream from a dry-mill ethanol plant. *Bioresour. Technol.* 99: 6505-6511.
- Nathan, M., W. Charles, D. Bruce, E. Richard, Y. Y. Lee, H. Mark, and L. Michael (2005) Features of promising technologies for pretreatments of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 96: 673-686.
- Araque, E., C. Parra, J. Freer, D. Contreras, J. Rodriguez, R. Mendonc, and J. Benza (2008) Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of *Pinus radita* d. don to ethanol. *Enzyme Microb. Technol.* 43: 157-162.
- Chaogang, L. and C. E. Wyman (2005) Partial flow of compressed-hot water through corn stover to enhance hemicellulose sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. *Bioresour. Technol.* 96: 1978-1985.
- Lishi, Y., Z. Hongman, C. Jingwen, L. Zengxiang, J. Qiang, J. Honghua, and H. He (2008) Dilute sulfuric acid cycle spray flow-through pretreatment of corn stover for enhancement of sugar recovery. *Bioresour. Technol.* 100: 1803-1808.
- Choi, J. W., H. J. Lim, K. S. Han, H. Y. Kang, and D. H. Choi (2005) Characterization of degradation features and degradative product of poplar wood (*populus alba* × *glandulosa*) by flow type-supercritical water treatment. *J. Kor. For. En.* 24: 39-46.
- Todd, A. L. and E. W. Charles (2005) Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Bioresour. Technol.* 96: 1967-1877.