

열수액화를 이용한 미세조류 추출잔사로부터 바이오원유 제조에 대한 반응인자의 영향

Influence of Reaction Parameters on Biocrude Production from Lipid-extracted Microalgae using Hydrothermal Liquefaction

류영진[†], 신희용[†], 양지현, 이윤우, 정인재, 박한울, 이철균*

Young-Jin Ryu[†], Hee-Yong Shin[†], Ji-Hyun Yang, Yunwoo Lee, Injae Jeong, Hanwool Park, Choul-Gyun Lee*

해양바이오에너지 생산기술개발연구센터 & 인하대학교 생물공학과, 인천광역시 남구 인하로 100, 22212, 대한민국

National Marine Bioenergy R&D Consortium & Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 22212, Republic of Korea

[†] Both authors contributed equally to this work

(Received 8 December 2017, Revised 22 December 2017, Accepted 22 December 2017)

Abstract Hydrothermal liquefaction of lipid-extracted *Tetraselmis* sp. feedstock containing 80 wt.% water was conducted in a batch reactor at different temperatures (300, 325, and 350°C) and reaction times (5, 10, 20, 40, and 60 min). The biocrude yield, elemental composition and higher heating value obtained at various reaction conditions were used to predict the optimum conditions for maximizing energy recovery of biocrude with good quality. A maximum energy recovery of 67.6% was obtained at 325°C and 40 min with a high energy density of 31.8 MJ/kg and lower contents of nitrogen and oxygen. Results showed that reaction conditions of 325°C, 40 min was most suitable for maximizing energy recovery while at the same time achieving improved quality of biocrude.

Keywords : Hydrothermal liquefaction; Lipid-extracted microalgae; *Tetraselmis* sp.; Biocrude

서 론

2016년 세계 에너지 소비량 중 화석연료의 비중은 85.5% (석유 33.3%, 석탄 28.1%, 천연가스 24.1%)를 차지하고 있다 [4]. 하지만 화석 연료는 매장량에 한계가 있는 유한한 자원이다. 화석 연료는 자연적 과정을 통해 지속적으로 형성되고 있지만, 형성 주기가 수백

만 년이며 형성되는 양보다 소모되는 양이 훨씬 많기 때문에 [24] 재생산이 불가능한 자원으로 간주된다.

에너지원으로서 화석연료를 사용하는 것은 환경적인 측면에서 많은 논란을 야기한다. 화석 연료의 연소 시 발생하는 이산화탄소는 매년 213억톤 이고 그 중, 절반이 광합성 등의 자연과정으로 흡수되기 때문에 전체적으로 매년 대기 중 이산화탄소량은

* Corresponding author
Phone: +82-32-872-7518 Fax: +82-32-873-7518
E-mail: leecg@inha.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

106억톤씩 증가한다 [25]. 이산화탄소 발생은 대기 중 온실 가스 농도 증가에 크게 기여한다. 전 세계적인 연구추세는 화석 연료를 대체하고 지구 온실 가스 배출량을 줄이기 위한 신 재생 에너지 개발에 초점이 맞추어져 있다.

반면 바이오연료는 원료로 식물, 광합성 박테리아, 미세조류 등의 바이오매스를 사용하기 때문에 지속 가능한 연료이다. 이러한 원료들은 성장과정에서 이산화탄소를 고정하기 때문에 바이오연료는 탄소중립적 (carbon neutral)이다. 바이오연료 중 당질계 원료를 사용하는 바이오에탄올 및 동식물성 유지를 이용하는 바이오디젤은 상업적 생산이 이루어지고 있으나, 이들 1세대 바이오연료는 육상 작물을 원료로 하기 때문에 식량자원과 경쟁할 수밖에 없다. 이러한 문제의 대안으로 미세조류가 주목받고 있다. 미세조류는 육상 작물에 비해 단위 경작면적당 생산량이 크며 [7], 성장속도가 빠르고, 성장 주기가 짧으며 [26, 28], 높은 광합성 효율을 가진다. 이러한 장점들로 인해 미세조류를 활용한 바이오연료의 생산이 주목받고 있다.

최근 이러한 미세조류로부터 발전용 및 수송용 바이오연료 제조에 관심이 집중되고 있다 [5, 6, 11, 12]. 이러한 액상 바이오연료의 적합한 제조공정으로는 발효 (fermentation) 같은 생물 공정 [14, 17], 지질의 전이에스테르화 반응 (transesterification) [9, 15, 22], 급속열분해 (fast pyrolysis) [13, 23], 그리고 열수액화 (Hydrothermal liquefaction: HTL)가 있다.

이러한 공정 중 열수액화공정은 수증기 생물인 미세조류 같이 젖은 바이오매스로부터 바이오에너지를 전환하는 방법 중에 가장 유망한 것으로 알려져 있다.

열수액화공정은 200-350°C 및 5-20 MPa의 고온·고압의 물 (아임계수)을 이용하여 바이오매스를 바이오원유와 수용성 물질, 기체, 고형분 등으로 전환하는 열화학적 처리 방법이다 [18]. 열수액화공정은 승온과정에서 증발열 생성을 막을 수 있고, 단백질과 탄수화물을 원료보다 높은 에너지 밀도를 가진 바이오오일로 변환시킨다 [30]. 따라서 이러한 열화학적 변환공정은 건조과정에서 발생하는 에너지를 필요로 하지 않고 [32], 높은 수율의 바이오오일을 얻을 수 있다 [31]. 게다가 수증에 회수된 영양분은 적절한 농도로 회석되어 미세조류 배양에 재사용될 수 있다 [2].

기존의 촉매반응공정과 비교할 때, 무촉매 열수액화 공정은 타 반응에 비하여 격렬하기 때문에 온도, 압력, 물의 몰비 등의 반응인자는 반응 속도와 반응 경로에 영향을 끼친다. 열수액화에 의한 바이오원유 생산은 원료에 따라 달라지며, 반응인자에 의해 미세조류 바이오원유의 최적 생산의 연구가 필요하다.

현재 미세 조류 전환 연구는 주로 지질 추출을 통해 단일 미세 조류 분획 (지질)을 바이오디젤 (fatty acid methyl ester: FAME)로 전환하는 것에 초점을 두고 있다. 지질 추출 후 잔여물로 바이오매스 또는 지질 추출 잔사 (lipid-extracted algae: LEA)가 발생한다. 미세 조류의 지질 함량은 전형적으로 건조 기준으로 25wt%의 평균값을 갖는 15 내지 50wt% 범위이고, 따라서 LEA 함량은 건조 미세 조류의 85wt%까지 높을 수 있다. 따라서 지질 추출 후 대량으로 발생하는 잔여물인 LEA를 연료화 한다면 더 높은 에너지 수율을 얻을 수 있다. 미세조류 지질 추출에 대한 광범위한 연구가 지질 생산을 극대화하기 위해 수행되었지만, 지질 추출 후 LEA의 부가가치화는 제한된 연구에서만 조사되었다. 이러한 LEA 공정 기술은 가축 사료 성분 생산 [20], 바이오 가스 생산을 위한 혐기성 소화 [36], 화학 생산을 위한 발효 [19] 등을 포함한다. 하지만 LEA의 액체 연료로의 직접 전환에 대한 연구는 미미하다.

본 연구에서는 *Tetraselmis* sp. KCTC 12236BP의 지질추출 후 잔여물을 원료로 하여 반응온도와 반응 시간을 주요 변수로 설정하고 열수액화 반응을 진행하였다. 각각의 반응 조건에 따른 바이오원유, 수용성물질, 기체 및 고형분의 질량 분율을 측정하였다. 생성물 중 바이오원유의 원소분석을 통해 고위발열량을 산출하였고 에너지 회수율을 평가하였다. 위와 같은 분석을 통해 최적의 에너지회수 및 고품질의 바이오원유를 회수하는 공정 조건을 고찰하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 균주 제조방법

Tetraselmis sp. KCTC 12236BP 균주는 대한민국 인천광역시 강화군 강화도 인근에서 분리 및 동정하였으며 [29], 인공해수를 이용하여 배양하였다. 인공해수는 증류수에 30 g/L NaCl, 0.66 g/L KCl, 8.48 g/L MgCl₂·6H₂O, 1.9 g/L CaCl₂·2H₂O, 6.318 g/L MgSO₄·7H₂O, 0.18

g/L NaHCO₃를 첨가하여 제조하였다. 인공해수에 미세 조류가 성장하기 위한 영양분으로 f/2-Si 배지를 추가적으로 공급하였다. 그 조성은 75 mg/L NaNO₃, 5 mg/L NaH₂PO₄·H₂O, 3.15 mg/L FeCl₃·6H₂O, 4.36 mg/L Na₂EDTA·2H₂O, 0.180 mg/L MnCl₂·4H₂O, 0.022 mg/L ZnSO₄·7H₂O, 0.01 mg/L CoCl₂·6H₂O, 0.01 mg/L CuSO₄·5H₂O, 0.006 mg/L Na₂MoO₄·2H₂O이다. 본 배양을 위한 균주 유지는 100 L 평판형광생물 반응기에서 광도 100 μE/m²/s, 2% CO₂ 0.2 vvm 폭기로 이루어졌다.

20일간의 배양 후, 배양액을 125 mm 원심분리관이 장착된 관형 원심분리기 (한일과학 J-1250)를 사용하여 7000 rpm에서 원심분리하여 세포를 회수하였다. 회수된 젖은균체는 동결건조하였다.

탈지세포 제조 및 원료 특성 분석

동결건조된 *Tetraselmis* sp. KCTC 12236BP 균주의 탈지세포 제조 과정은 다음과 같다. 동근 플라스크 2 L에 동결건조 균체 100.0 g과 메탄올/클로로포름 1:1 혼합용액을 1 L 넣고 가열하여 2시간동안 환류 교반을 한 다음 냉각하였다. 그 후, 혼합물은 여과지를 이용하여 여과한 다음, 케이크는 1회 반복하여 추출하였다. 2회 추출된 케이크는 건조 오븐에 40°C, 12시간 건조하였다. 건조된 탈지세포의 무게는 60.0 g 이었다. 탈지세포 원료 특성을 알아보기 위해 CHNS 원소분석 (Thermo EA1112, Thermo Electron Corp.)을 수행하였다. 원료의 biochemical composition 분석은 다음과 같이 수행하였

다. 지질함량은 Folch method [10]를 통해 측정하였으며, 단백질 함량은 질소함량에 질소계수를 곱하는 조단백질 정량 방법 [21, 27]을 통해 예측하였다. 회분측정은 100 mg의 미세조류를 575°C로 설정한 가열로에 넣고 12시간 뒤 남은 회분의 무게를 측정하는 방식으로 수행하였다. 조탄수화물의 함량은 전체 무게에서 조단백질, 조지질, 회분의 무게를 감하여 계산하였다. 원소분석 결과와 이를 통해 계산된 원료의 고위발열량 (higher heating value: HHV) 및 생화학적 조성을 Table 1에 나타내었다.

열수액화 반응 및 생성물 분획

열수액화 반응은 스테인리스 스틸 재질의 cap-sealed 관형 반응기를 이용하여 수행하였다. 반응용기에 1 g의 건조 탈지미세조류와 4 mL의 물을 투입한 후 반응 온도 (300, 325, 350°C)로 설정해 놓은 용융염 (molten salt)에 넣어 가열하였다. 설정 온도에 도달 후 반응시간 (5, 10, 20, 40, 60분) 동안 유지한 뒤 반응기를 차가운 수돗물에 담가 식혀서 반응을 종료하였다.

열수액화 반응 생성물의 분리 과정은 Figure 1과 같다. 반응이 종료된 뒤 반응기의 마개를 연 뒤 감소한 무게를 측정하여 기체상의 질량분율을 측정하였다. 반응기 내의 혼합물에 클로로포름 5 mL을 가한 뒤 여과하여 고형분을 분리하였다. 물/클로로포름 혼합물은 층 분리를 진행하여 수층과 바이오원유 층을 얻었다. 본 연구에서는 생성물 중 클로로포름에 용해되는 부분을 바이오원유로 정의하였다.

Table 1. Elemental and biochemical composition of lipid-extracted *Tetraselmis* sp. and its HHV.

Elemental composition (wt%)		Biochemical composition (wt%)	
C	42.8	Lipid	< 1.0
H	6.4	Protein	56.3
N	9.0	Carbohydrate ^b	36.1
O ^a	28.8	Ash	7.6
HHV (MJ/kg)	18.8		

^{a,b}Calculated by difference.

바이오원유 분석

탄소, 수소, 질소, 인, 산소 함량 분석을 통해 바이오원유의 고위발열량 및 에너지 회수율 (energy recovery: ER)을 계산하였다. 고위 발열량 계산에는 Dulong 계산식 [3]을 사용하였다.

$$HHV \text{ (MJ/kg)} = 0.3383 \times C + 1.443 \times \left(H - \frac{O}{8} \right) + 0.0942 \times S \quad (1)$$

C, H, O, S는 각각 탄소, 수소, 산소, 황의 질량분율이다.

$$ER \text{ (\%)} = \frac{HHV_b \times Y_b}{HHV_f} \quad (2)$$

HHV_f는 원료의 고위발열량, HHV_b는 바이오원유의 고위발열량이며 Y_b는 바이오원유의 질량분율이다.

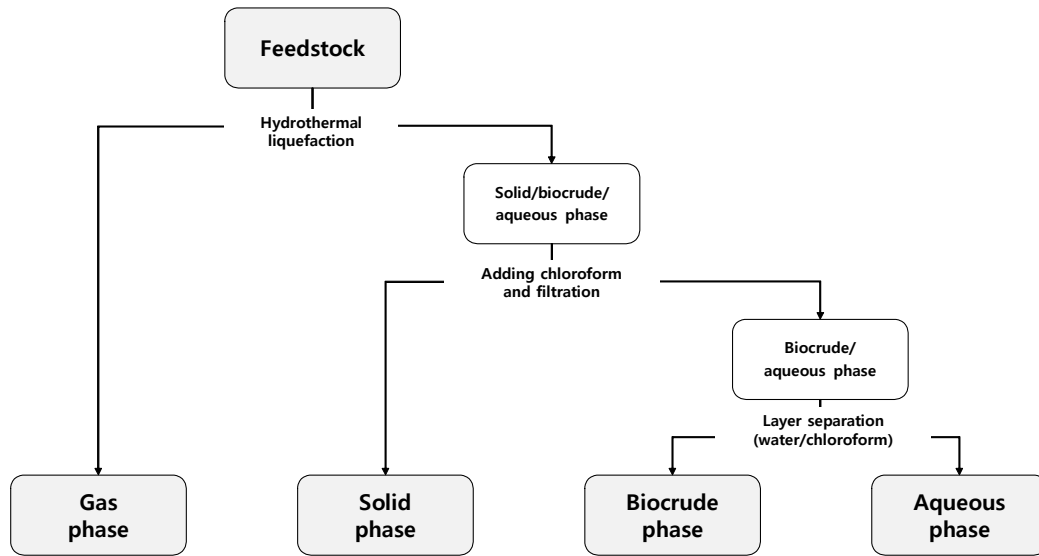


Figure 1. Flow diagram of HTL products separation and recovery.

결과 및 고찰

열수액화 반응 생성물 수율 분석

열수액화 공정의 반응경로에 영향을 주는 주요 요인은 반응 온도와 반응 시간이다. 반응온도와 반응 시간에 따른 각 생성물의 질량분율을 Figure 2에 나타내었다. 모든 온도조건에서 원료로 사용한 미세조류 탈지세포의 지질함량보다 높은 분율의 바이오원유를 수득하였다. 300°C에서는 시간에 따라 바이오원유의 질량분율이 증가하여 20분에서 40%의 가장 높은 분율을 나타냈다. 이후 반응시간이 더 길어지면 바이오원유의 질량분율이 감소하는 결과를 보였다. 325°C에서는 40분에서 가장 높은 바이오원유 질량분율 (40%)을 보인 뒤에 그 값이 감소하였고, 350°C에서는 10분에서 가장 높은 바이오원유 수율 (41%)을 보였다. 각각의 온도조건 모두 반응시간이 길어질수록 바이오원유 분율이 증가하여 특정 반응시간에 최대 질량분율에 도달하였고 이후 반응시간이 더 길어지면 바이오원유의 질량분율이 감소하는 경향을 보였다. 이와는 반대로 기체의 질량분율은 반응시간이 증가함에 따라 그 값이 증가하였다. 이와 같은 결과는 열수액화 반응에서 가수분해 (hydrolysis)와 재중합 (repolymerization)이 동시에 과잉반응으로 작용하기 때문이다. 반응시간과 온도가 증가할수록 바이오원유와 수층내의 성분은 분해반응이 발생할 것으로 사료된다 [33]. 따라서, 바이오원유의 질량분율은 감소하고 고체와 기체의 질량분율은 증가한다.

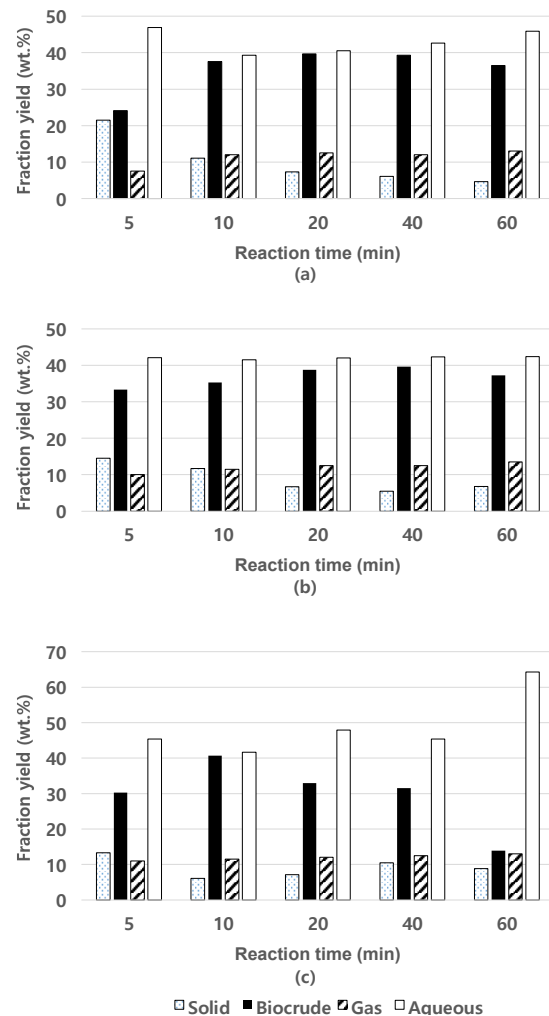


Figure 2. Influence of the reaction temperature and time on the HTL product yields: (a) 300°C, (b) 325°C, and (c) 350°C.

반응인자에 따른 에너지회수율 및 바이오원유 품질 분석

열수액화 공정의 1차적인 목표는 바이오원유를 만드는데 있으므로 투입된 원료의 에너지 대비 연료로 전환된 에너지를 나타내는 에너지 회수율과 바이오원유의 품질이 중요하다. 에너지 회수율 관점에서 접근하면 각각의 온도 조건에 따라 에너지 회수를 위한 최적의 반응 시간이 존재하였다. Figure 3에 나타나듯이 325°C에서는 40분, 350°C에서는 10분의 반응시간에서 약 68%의 비슷한 에너지 회수율을 보였다. 바이오원유의 품질은 고위발열량과 질소 및 산소 함량에 크게 연관되어있다. 바이오원유 내의 질소와 산소는 저장안정성과 촉매개질에 부정적인 영향을 끼친다 [16]. 게다가 바이오원유 내 높은 질소 함량은 연소 시 질소산화물로 공기중

에 배출된다 [1]. 각각의 온도, 시간 조건에서 얻은 바이오원유 성분의 원소분석 결과와 고위발열량을 Table 2에 나타내었다. 바이오원유 내 질소와 산소 함량은 반응 시간이 증가함에 따라 감소하였다. 일반적으로 열수액화 반응에서 탈수 (dehydration)와 탈탄산 (decarboxylation) 반응에 의해 산소는 물과 이산화탄소로 회수되고 [8], 탈아민 (deamination) 반응에 의해 질소가 제거되어 [37], 바이오원유 내 질소와 산소함량이 낮아진다. 바이오원유 내 고위발열량은 탄소함량의 증가와 산소함량의 감소에 따라 증가하기 때문에 반응온도가 높을수록 바이오원유의 고위발열량은 높은 것으로 확인되었다. 다양한 반응조건에서 수득한 바이오원유의 고위발열량은 26.4-34.5 MJ/kg이었으며, 원료 (18.8 MJ/kg)에 비해 1.4-1.8배 가량 높았다.

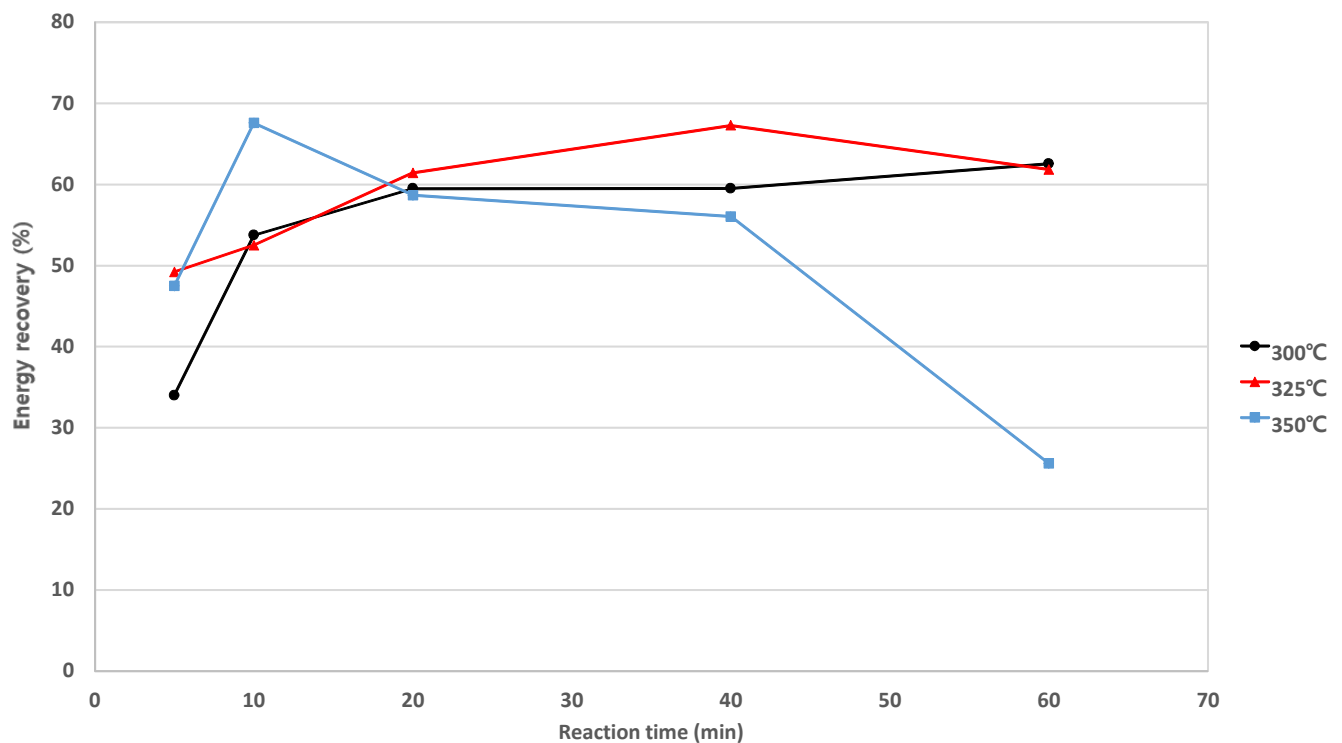


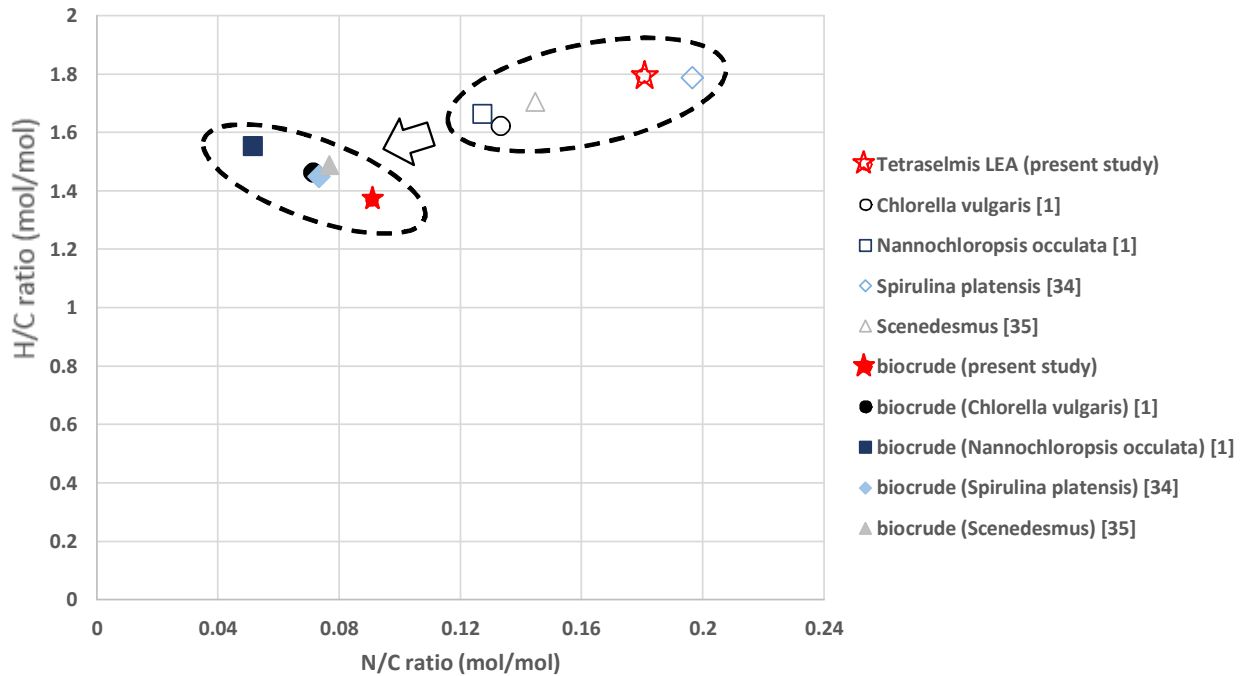
Figure 3. Effect of the reaction temperature and time on the energy recovery of biocrude.

Figure 4는 다양한 미세조류 바이오매스 및 바이오원유에 대하여 N/C와 O/C 비율에 따른 H/C 비율을 나타낸 것이다. *Tetraselmis* sp. KCTC 12236BP 탈지세포의 N/C와 O/C 비율은 열수액화를 통한 바이오원유 전환과정 후 크게 감소하였다. Figure 4 (a)에서, 본 연구의 최적 반응조건에서 얻은 바이오원유의 H/C와 N/C 비율은 선행연구 [1, 34, 35]에서

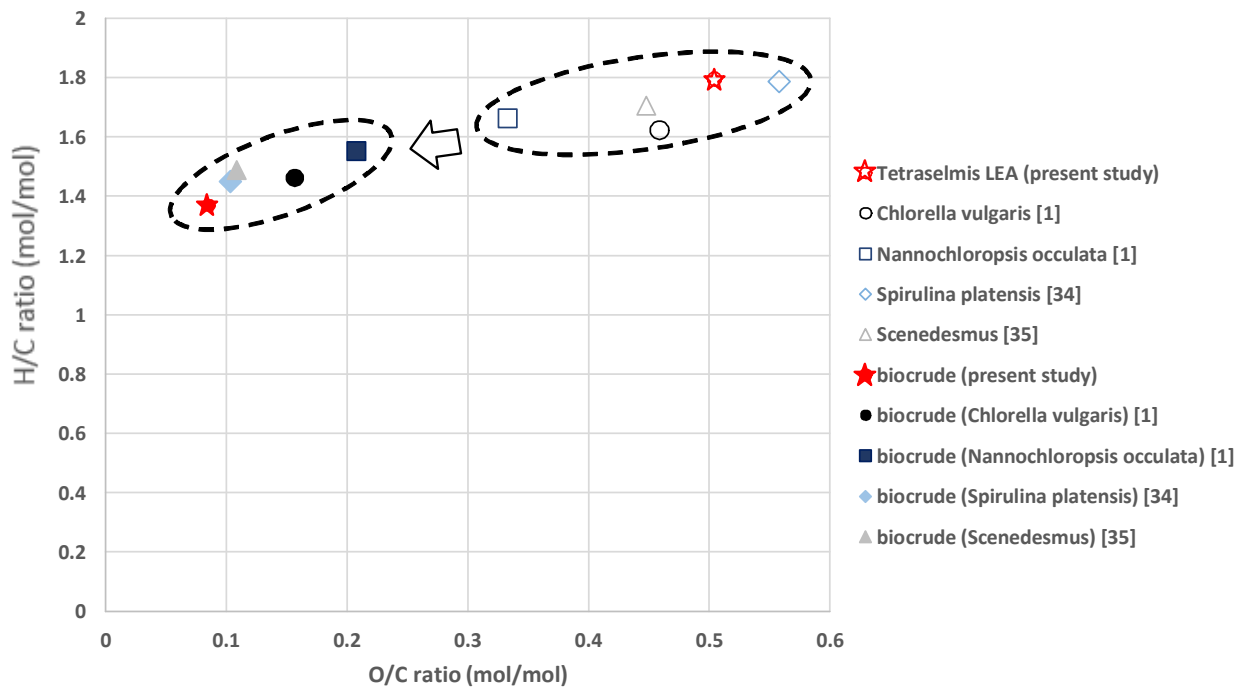
얻은 바이오원유와 유사성이 높았다. Figure 4 (b)는 Van Krevelen diagram에 기초한 다양한 미세조류와 바이오원유를 분류하고 그린 것이다. 열수액화를 통해 생산된 바이오원유는 N/C와 O/C가 감소하여 연료로서 특성이 향상된 것을 알 수 있었다. 일반적으로 Van Krevelen diagram은 연료의 종류를 분류하기 위한 방법으로 이용되고 있고, 본 연구에

서 열수액화를 통해 생산된 바이오원유는 H/C와 O/C의 비율이 다른 연구에서의 바이오원유와 밀접한 유사성을 보이고 있다는 것을 알 수 있다. 이

는 *Tetraselmis* sp. KCTC 12236BP 탈지세포가 열수액화를 통한 바이오원유를 생산을 위한 공급 원료로서의 가능성이 있음을 보여준다.



(a)



(b)

Figure 4. H/C and N/C ratios (a) and Van Krevelen diagram (b) for different microalgae feedstock and corresponding biocrude.

위의 결과를 토대로, 최대의 에너지 회수율을 가지는 반응조건 중 325°C, 40분에서 31.8 MJ/kg의 높은 HHV를 보였고, 낮은 질소 및 산소 함량을

보였기 때문에 에너지 회수율 및 바이오원유의 품질 관점에서 325°C, 40분이 최적 조건으로 도출되었다.

Table 2. Elemental composition and HHV of biocrude obtained at different reaction conditions.

Temp. (°C)	Time (min)	Elemental Composition (wt%)					HHV (MJ/kg)
		C	H	N	S	O	
300	5	56.2	6.7	7.8	1.2	12.4	26.4
	10	56.4	6.6	7.5	1.1	10.0	26.8
	20	58.5	6.9	7.5	1.3	9.2	28.1
	40	59.0	6.8	6.6	1.0	7.5	28.4
	60	66.7	7.6	7.1	1.2	7.6	32.1
325	5	58.4	6.8	8.1	1.0	10.7	27.6
	10	58.6	6.8	7.6	1.1	9.6	27.9
	20	61.7	7.1	7.1	1.2	7.9	29.7
	40	66.0	7.5	7.0	1.2	7.5	31.8
	60	64.7	7.3	6.5	1.0	7.2	31.1
350	5	61.5	7.2	8.5	1.2	10.0	29.4
	10	64.8	7.5	7.8	1.7	9.1	31.1
	20	69.1	7.9	7.5	1.6	8.0	33.3
	40	68.8	7.9	7.3	1.0	7.6	33.3
	60	71.1	8.3	7.9	1.5	8.3	34.5

결론

본 연구에서는 *Tetraselmis* sp. KCTC 12236BP의 탈지세포를 사용하여 열수액화 반응의 최적 조건을 고찰하였다. 에너지 회수율 및 연료 품질을 종합적으로 고려했을 때 최적의 반응조건은 325°C, 40분으로 도출되었다. 최적 조건에서의 바이오 원유의 에너지 회수율은 68%였으며 31.8 MJ/kg의 높은 고위 발열량과 낮은 산소/질소함량을 보여 높은 연료 품질을 나타냈다. 이와 같은 연구 결과는 미세조류의 탈지세포의 연료화 가능성 및 이를 이용한 열수액화 반응의 최적조건을 탐색하는데 있어서 이정표가 될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부의 재원으로 해양생명공학 기술개발사업 (Project No. : 20090267, 해양미세조류 이용 바이오디젤 생산기술 개발) 개발연구비 지원과 2017년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원 (Project No. : 20140505, 해양에너지 용

복합 인력양성)을 받아 수행되었습니다.

References

1. Biller, P., Ross, A.B., 2011. Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content. *Bioresour. Technol.* **102**, 215 - 225.
2. Biller, P., Ross, A.B., Skill, S.C., Lea-langton, A., Balasundaram, B., Hall, C., Riley, R., Llewellyn, C.A., 2012. Nutrient recycling of aqueous phase for microalgae cultivation from the hydrothermal liquefaction process. *Algal Res.* **1**, 70 - 76.
3. Channiwala, S.A., Parikh, P.P., 2002. A unified correlation for estimating HHV of solid, liquid and gaseous fuels. *Fuel* **81**, 1051 - 1063.
4. Dale, S., 2017. BP Statistical Review of World Energy June 2017. London.
5. Demirbas, A., Demirbas, M.F., 2010. Algae energy: Algae as a New Source of Biodiesel. Springer Science & Business Media.
6. Deng, X., Li, Y., Fei, X., 2009. Microalgae : A promising feedstock for biodiesel. *African J. Microbiol. Res.* **3**, 1008 - 1014.
7. Dismukes, G.C., Carrieri, D., Bennette, N., Ananyev, G. M., Posewitz, M.C., 2008. Aquatic phototrophs: efficient

- alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**, 235 - 240.
8. Eboibi, B.E., Lewis, D.M., Ashman, P.J., Chinnasamy, S., 2014. Effect of operating conditions on yield and quality of biocrude during hydrothermal liquefaction of halophytic microalga *Tetraselmis* sp. *Bioresour. Technol.* **170**, 20 - 29.
 9. Ehimen, E.A., Sun, Z.F., Carrington, C.G., 2010. Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. *Fuel* **89**, 677 - 684.
 10. Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues.
 11. Georgianna, D.R., Stephen, P., 2012. Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels. *Nature* **488**, 329 - 335.
 12. Gouveia, L., 2011. *Microalgae as a Feedstock for Biofuels*. Springer, Berlin, Heidelberg.
 13. Harman-Ware, A.E., Morgan, T., Wilson, M., Crocker, M., Zhang, J., Liu, K., Stork, J., Debolt, S., 2013. Microalgae as a renewable fuel source: Fast pyrolysis of *Scenedesmus* sp. *Renew. Energy* **60**, 625 - 632.
 14. Harun, R., Danquah, M.K., Forde, G.M., 2010. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **85**, 199 - 203.
 15. Hidalgo, P., Toro, C., Ciudad, G., Navia, R., 2013. Advances in direct transesterification of microalgal biomass for biodiesel production. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* **12**, 179 - 199.
 16. Jena, U., Das, K.C., Kastner, J.R., 2011. Effect of operating conditions of thermochemical liquefaction on biocrude production from *Spirulina platensis*. *Bioresour. Technol.* **102**, 6221 - 6229.
 17. John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M., Pandey, A., 2011. Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. *Bioresour. Technol.* **102**, 186 - 193.
 18. Kumar, G., Shobana, S., Chen, W.-H., Bach, Q.-V., Kim, S.-H., Atabani, A.E., Chang, J.-S., 2017. A review of thermochemical conversion of microalgal biomass for biofuel: chemistry and processes. *Green Chem.* **19**, 44 - 67.
 19. Lee, O.K., Kim, A.L., Seong, D.H., Lee, C.G., Jung, Y.T., Lee, J.W., Lee, E.Y., 2013. Chemo-enzymatic saccharification and bioethanol fermentation of lipid-extracted residual biomass of the microalga, *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresour. Technol.* **132**, 197 - 201.
 20. Maisashvili, A., Bryant, H., Richardson, J., Anderson, D., Wickersham, T., Drewery, M., 2015. The values of whole algae and lipid extracted algae meal for aquaculture. *Algal Res.* **9**, 133 - 142.
 21. Mariotti, F., Tomé, D., Mirand, P.P., 2008. Converting Nitrogen into Protein – Beyond 6.25 and Jones Factors. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **48**, 177 - 184.
 22. Miao, X., Wu, Q., 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour. Technol.* **97**, 841 - 846.
 23. Miao, X., Wu, Q., Yang, C., 2004. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **71**, 855 - 863.
 24. Miller, G., Spoolman, S., 2007. *Environmental science: problems, connections and solutions.*, 12th ed. Jack Carey, Belmont, CA.
 25. Patel, 2014. Environmental and economical effects of fossil fuels. *J. Recent Res. Eng. Technol.* **1**.
 26. Pirt, S.J., 1986. The thermodynamic efficiency (quantum demand) and dynamics of photosynthetic growth. *New Phytol.* **102**, 3 - 37.
 27. Safi, C., Charton, M., Pignolet, O., 2013. Influence of microalgae cell wall characteristics on protein extractability and determination of nitrogen-to-protein conversion factors. *J. Appl. Phycol.* **25**, 523 - 529.
 28. Schenk, P.M., Thomas-hall, S.R., 2008. Second Generation Biofuels : High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *BioEnergy Res.* **1**, 20 - 43.
 29. Shin, D., Bae, J., Cho, Y., Ryu, Y., Kim, Z., Lim, S., Lee, C., 2016. Isolation of new microalga, *Tetraselmis* sp. KCTC12236BP, and biodiesel production using its biomass. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **8**, 39 - 44.
 30. Shuping, Z., Yulong, W., Mingde, Y., Kaleem, I., Chuna, L., Tong, J., 2010. Production and characterization of bio-oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake. *Energy* **35**, 5406 - 5411.
 31. Tian, C., Li, B., Liu, Z., Zhang, Y., Lu, H., 2014. Hydrothermal liquefaction for algal biorefinery: A critical review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **38**, 933 - 950.
 32. Toor, S.S., Rosendahl, L., Rudolf, A., 2011. Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies. *Energy* **36**, 2328 - 2342.
 33. Valdez, P.J., Nelson, M.C., Wang, H.Y., Lin, X.N., Savage, P.E., 2012. Hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp.: Systematic study of process variables and analysis of the product fractions. *Biomass and Bioenergy* **46**, 317 - 331.
 34. Vardon, D.R., Sharma, B.K., Scott, J., Yu, G., Wang, Z., Schideman, L., Zhang, Y., Strathmann, T.J., 2011. Chemical properties of biocrude oil from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* algae, swine manure, and digested anaerobic sludge. *Bioresour. Technol.* **102**, 8295 - 8303.
 35. Vardon, D.R., Sharma, B.K., Blazina, G. V., Rajagopalan, K., Strathmann, T.J., 2012. Thermochemical conversion of raw and defatted algal biomass via hydrothermal liquefaction and slow pyrolysis. *Bioresour. Technol.* **109**, 178 - 187.
 36. Ward, A.J., Lewis, D.M., Green, F.B., 2014. Anaerobic digestion of algae biomass : A review. *Algal Res.* **5**, 204 - 214.
 37. Yu, G., Zhang, Y., Schideman, L., Funk, T., Wang, Z., 2011. Environmental Science Distributions of carbon and nitrogen in the products from hydrothermal liquefaction of low-lipid microalgae. *Energy Environ. Sci.* **4**, 4587 - 4595.