

열수전처리를 이용한 탈지미세조류로부터 발효당 생산 공정 개발

이지현 · 신슬기 · 최강훈 · 조재민 · 김진우[†]

선문대학교 식품과학과
31460 충남 아산시 탕정면 선문로 221번길 70
(2016년 3월 1일 접수, 2016년 3월 16일 수정본 접수, 2016년 3월 31일 채택)

Production of Fermentable Sugar from Lipid Extracted Algae using Hot Water Pretreatment

Lee Jihyun, Shin Seulgi, Choi Kanghoon, Jo Jaemin and Kim JinWoo[†]

Department of Food Science, Sunmoon University, 70, Sunmoon-ro 221beon-gil, Tangjeong-myeon, Asan, Chungnam, 31460, Korea
(Received 1 March 2016; Receive in revised form 16 March 2016; accepted 31 March 2016)

요 약

미세조류 세포벽은 셀룰로오스가 주요 구성성분으로 리그닌을 포함하지 않아 낮은 온도의 전처리 조건에서도 효과적으로 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 분해가 가능하다. 차세대 바이오매스로 주목 받는 미세조류(*Tetraselmis* KCTC 12236BP)로부터 120 °C 이하의 낮은 온도 조건에서 열수전처리를 이용한 발효당 생산 증대를 위해 공정조건을 최적화하였다. 주요 공정조건인 추출온도, 황산농도와 추출시간에 따른 당화율 변화를 확인하였을 때, 온도와 황산농도가 글루코오스 생산에 큰 영향을 컸으며 당화율이 비례하여 증가하는 경향을 보였다. 경제성을 고려한 열수전처리 최적 조건은 120 °C, 2 mol 황산, 40분으로 95.9%의 당화율을 얻을 수 있었다. 탈지미세조류의 황산 열수전처리와 효소당화를 비교했을 때, 황산 열수전처리의 당화율이 2.1배 이상 높고 전처리 시간이 짧아 황산 열수전처리가 효소당화에 비해 효과적인 공정임을 확인하였다.

Abstract – The microalgae have cellulose as a main structural component of their cell wall and the lignin content in microalgae is much lower than other lignocellulosic biomass. Therefore, fermentable sugar production from microalgae (*Tetraselmis* KCTC 12236BP) can be carried out under pretreatment without high temperature and high pressure. It was investigated that the effect of hot-water pretreatment using sulfuric acid for lipid extracted algae which is expected to be a next generation biomass. The effects of three major variables including extraction temperature, acid concentration and time on the enzymatic hydrolysis were investigated. Among the tested variables, temperature and acid concentration showed significant effects and optimum pretreatment conditions for the economic operation criteria were obtained as follows: reaction temperature of 120 °C, sulfuric acid concentration of 2 mol and pretreatment time of 40 min. Under the optimum conditions of acidic hot water pretreatment, experimentally obtained hydrolysis yield were 95.9% which showed about 2.1 fold higher compared with enzymatic hydrolysis process. Therefore, acid pretreatment under mild condition was proven to be an effective method for fermentable sugar production from lipid extracted microalgae.

Key words: Lipid extracted microalgae, Byproduct, Fermentable sugar, Hot water pretreatment, Acid pretreatment

1. 서 론

산업화로 인한 화석연료 사용증가로 인한 환경과 에너지문제가 전 지구적으로 발생하고 있어 대체연료 개발과 함께 온실가스 감축과 탄소거래제 등을 통해 이산화탄소 배출량을 동결 또는 저감시키기 위한 적극적인 정책들이 전세계적으로 시행되고 있다. 위와 같은 문제에 대한 해결책으로 옥수수, 사탕수수, 콩, 유채 등과 같은 1세대 바이오매스인 식용작물을 이용한 바이오연료 생산이 진행되어왔으

나 식량자원의 연료화라는 윤리적 문제, 공급부족에 의한 가격 상승 및 불안정한 수급으로 인해 생산이 제한되고 있는 실정이다. 이를 극복하기 위해, 식량자원과 충돌이 없고 이산화탄소 저감 효과가 뛰어난 목본 및 초본류를 이용한 2세대 목질계 바이오에탄올에 대한 연구가 꾸준히 이뤄져 왔다[1]. 그러나 당화/발효저해물질인 리그닌 제거가 어렵고 결정성 고분자구조인 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 당당화에 고비용 전처리/효소당화 공정이 필요하여 2세대 바이오매스를 이용한 바이오연료 및 케미칼 상업화에 어려움을 겪고 있다.

최근 들어 비식용작물이며 이산화탄소 고정 능력이 뛰어나고 기 후에 따른 생산성 저하가 적으며 농경지가 아닌 물과 햇빛이 있는 어느 곳에서나 배양이 가능하고 탄수화물/지질 생산효율이 뛰어난 미세조류가 바이오연료와 케미칼 생산을 위한 3세대 바이오매스로

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kimjw1028@sunmoon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

많은 관심을 받고 있다[2]. 특히 미세조류는 바이오디젤 생산을 위해 배양되며 부산물인 지질과 함께 셀룰로오스의 함량이 15~62%로 높고 리그닌을 불포함하여 목질계 바이오매스 대비 전처리가 용이한 장점을 지닌다. 또한 발효부산물인 피놀릭스와 푸르프랄의 생성이 최소화 된 글루코오스가 주요성분인 당화액이 생산됨으로 복합당 발효를 위한 균주개발이 필요 없다는 장점을 지닌다[3]. 목질계의 경우 셀룰로오스를 보호하고 있는 2차 세포벽의 주성분인 리그닌 성분이 10~30%를 차지하고 있어 리그닌 제거를 위한 고온/고압 전처리 공정의 선행되어야 하며 노출 된 셀룰로오스 분해를 위한 효소 당화를 통해 발효당을 생산하는 2단계 공정이 필수적이다. 반면, 리그닌이 존재하지 않는 미세조류의 경우 목질계와 달리 리그닌 제거를 위한 고온 전처리가 필요 없으며 산을 이용한 120 °C 이하의 낮은 온도의 전처리만으로 글루코오스 또는 자일로오스와 같은 단당을 생산할 수 있을 것으로 보고되고 있다[4].

탈지미세조류는 미세조류로부터 지질 추출 후 버려지는 유기성 물질로 폐기되거나 동물사료로 사용 되는 등 활용도가 낮은 부산물로 인식되고 있다. 하지만 탈지미세조류에 존재하는 셀룰로오스 성분의 전처리/당화를 이용해 발효당을 생산 할 경우 부산물로부터 부가가치 물질 생산하여 부산물 credit을 확보를 통해 미세조류 바이오디젤의 경쟁력을 높이는 데 기여할 수 있을 것으로 보인다. 따라서 본 연구에서는 탈지미세조류를 이용한 열수전처리로 무효소 당화공정의 가능성을 확인하고 공정 주요인자인 추출온도, 추출시간 및 산농도의 최적화를 통해 보다 효과적이고 상업화에 적합한 발효당 생산공정을 제안하고자 한다.

2. 실험

2-1. 미세조류

본 연구에서는 인하대학교 해양바이오연구센터에서 실내배양기에서 배양 후 탈지과정을 마친 미세조류 *Tetraselmis* KCTC 12236BP를 제공받아 60 °C 오븐에서 12시간 건조하여 사용하였다. 10~35 mesh 크기의 체로 선택된 건조 탈지미세조류를 사용하였으며 실험에 사용할 때까지 -20 °C 냉동보관 하였다. 추출용매로 사용한 유기용매는 Sigma-Aldrich 사(St. Louis, MO, USA)의 순도 95% 이상 시약을 사용하였으며 분석에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich사의 일급 이상 시약을 사용하였다.

2-2. 고체분석

바이오매스의 성분분석은 미국 신재생 에너지 연구소(NREL; National Renewable Energy Laboratory)에서 제시한 NREL LAP (Laboratory Analytical Procedure)에 따라 분석을 진행하였다[5]. 해당 바이오매스 고체 샘플 0.3 g을 3.0 ml 고농도 황산(72% w/w)에 넣고 30 °C에서 1시간 동안 가수분해를 진행한 후 84 ml의 증류수로 4.0% 황산 액으로 희석한 후 고압멸균장치를 이용하여 121 °C에서 1시간 동안 2차 가수분해를 하였다. 가수 분해 된 상등액을 HPLC (Bio-Rad Aminex HPX-87P column)와 Refractive index detector (Varian 356-LC, Varian, Inc., CA, USA)를 이용하여 각 성분에 대한 정량분석을 수행하였다[6].

2-3. 효소당화

탈지미세조류의 당화는 125 ml 삼각플라스크에서 진행하였고

working volume은 20 ml이었다. 당화는 전처리 과정을 거치지 않은 탈지미세조류를 기질로 사용하였다. 기질을 삼각플라스크에 넣고 sodium citrate 완충용액(0.5 M, pH 4.8)와 혼합한 후 200 rpm의 진탕 배양기에서 진행하였다. 당화 조건은 온도 50 °C, 기질 농도 5% (w/v)로 조정하였으며 효소는 Celluclast® 1.5L (Novo Co., Denmark)와 Novozyme 188 (β-glucosidase, Novo Co., Denmark)을 사용하였다. 효소의 평균 활성도는 셀룰레이즈(cellulose)는 30 FPU/ml, β-glucosidase activity는 25CBU/ml이었다[7]. 당화 실험 샘플은 주기적으로(12, 24, 48, 72 h) 취하고 글루코오스와 자일로오스 농도를 HPLC를 이용하여 측정하였다.

2-4. 열수전처리

전처리 조건에 따른 당화를 변화를 조사하기 위하여 다음과 같은 방법을 이용하여 실험을 진행하였다. 밀폐형 강화유리튜브에 건조 시료 1 g과 용매 20 ml을 첨가하여 고체비 5%(v/w)으로 조정하여 oil bath침지하여 설정한 온도로 시간 별로 가열하여 전처리하였다. 전처리 후, 5 °C 물에 침지하여 효소반응을 지연시키고 1 ml의 당화액을 원심분리하여 HPLC를 이용한 당당류 분석에 사용하였다.

2-5. HPLC분석

당화과정을 통해 생산 된 단당의 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 대비 전환율을 측정하기 위해 당화액에 포함 된 오탄당과 육탄당 분석을 위해 HPLC (Waters, USA)를 사용하였다. 분석에 사용된 column은 Biorad사의 Aminex HPX-87H column이었고 검출에 사용된 detector는 Waters 410 RI detector (Waters, USA)이었다. 이동상으로는 0.005 mol 황산을 사용하였다. 이동상의 유속은 0.6 ml/min으로 운전하였으며 column의 온도는 60 °C이었고, detector의 온도는 50 °C 이었다. HPLC로부터 측정 된 글루코오스는 아래와 같은 식 (1)을 이용하여 셀룰로오스 대비 당화율로 환산되었다[8].

$$\text{Glucan 당화율} = \frac{\text{생산된 글루코오스 양(g)}}{\text{초기 글루칸 양(g)} \times 1.1} \times 100 \quad (1)$$

물분자 탈수에 의한 글루코오스와 셀룰로오스의 분자량 차이 보정 상수 = 1.1

3. 결과 및 고찰

3-1. 탈지미세조류 성분분석

목질계 바이오매스의 주성분은 고분자 탄수화물인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 페놀계 중합체인 리그닌으로 구성되어 있으며 이중 1차 세포벽의 주성분인 셀룰로오스는 글루코오스의 glycosidic 결합에 의해 고분자화 되어 있으며 헤미셀룰로오스는 자일로오스를 주성분으로 낮은 함량의 아라비노스, 만노스와 갈락토오스의 고분자로 이루어져 있다[9]. 이중 헤미셀룰로오스와 리그닌은 ester와 ether결합을 통해 셀룰로오스를 감싸 보호하는 2차 세포벽을 형성하여 세포벽을 더욱 강건하게 만들어 외부의 물리/화학/생물학적 공격으로부터 세포벽 구조를 방어하는 역할을 한다. 목질계 바이오매스로부터 리그닌과 일부 헤미셀룰로오스를 제거하여 세포벽을 강건한 구조를 약화시키고 노출 된 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 목질계 분해효소를 이용하여 단당화 시키는 것이 전처리와 당화의 역할이다. NREL 표준 성분분석법에 기준하여 탈지미세조류의 3가지 주요

Table 1. Composition of lipid extracted microalgae and rice straw

	Dry weight percent		
	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
LEA	11.4	6.6	0
Rice straw	34.4	17.9	12.4
Corn stover	38.4	24.4	17.0
Switchgrass	31.0	21.2	17.6

성분에 대한 고체분석을 수행하였을 때, Table 1에서 보는 바와 같이 탈지미세조류의 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 함량은 기존 목질계에 비해 30% 수준임을 확인할 수 있는데 이는 지질추출을 위한 1차 가공과정에서 리그닌을 포함한 주요 세포벽 성분이 제거되었기 때문으로 예측된다. 하지만 탈지미세조류는 리그닌을 불포함하고 헤미셀룰로오스의 함량이 매우 낮아 세포벽 분해가 용이하여 기존 목질계 바이오매스 대비 전처리 또는 당화가 필요 없거나 낮은 온도 조건(120 °C 이하)에서 전처리가 가능한 장점을 가질 수 있다.

3-2. 탈지미세조류 효소당화

탈지미세조류의 효과적인 당화를 위해 바이오매스와 완충용액간의 적절한 고체비(고체기질에 대한 액체의 비, % w/v) 선정이 중요하다. 고체비 감소에 따라 당화율이 증가하는 것을 예상할 수 있지만 낮은 고체비는 완충용액의 사용량 증가에 따른 낮은 농도의 당생산 및 원료비와 운전비용 상승과 폐수처리 비용이 증가한다는 단점이 있어 상업화 공정에 적합하지 못한 면이 있다. 일반적인 효소당화에 있어 5%(w/v)의 고체비로 효소당화를 진행하는데, 본 실험에서는 고체비 2.5%, 5%, 7.5%와 10%(w/v)로 기질량을 늘려가며 고체비가 당화에 미치는 영향을 평가하였다. Fig. 1은 고체비 실험에서 생산된 글루코오스를 당화율로 환산하여 표시한 그림으로 당화율은 고체비가 낮을수록 비례하여 증가하였으며 고체비 2.5%(w/v)에서 가장 높은 45.1% 당화율을 보였으나 72 h에서 고체비 5%(w/v)의 당화율 43.8%와 큰 차이가 없는 것을 볼 수 있었다. 높은 고체비에서 기질 농도에 증가에 따라 플라스크내의 유동성이 감소하면서 기질과 효소간의 균일한 혼합과 완충용액에 의한 원활한 물질이동이 제한되기 때문이라 판단된다. 또한, Andrić 등에 따르면 효소당화 중 생성

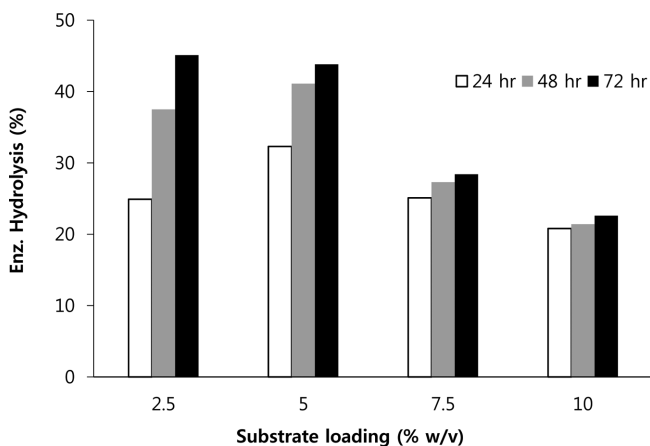


Fig. 1. Effect of substrate loading on the enzymatic hydrolysis of lipid extracted algae. Substrate concentration 2.5~10% (w/v), pH 4.8, temperature 50 °C, Celluclast 1.5L (60 FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

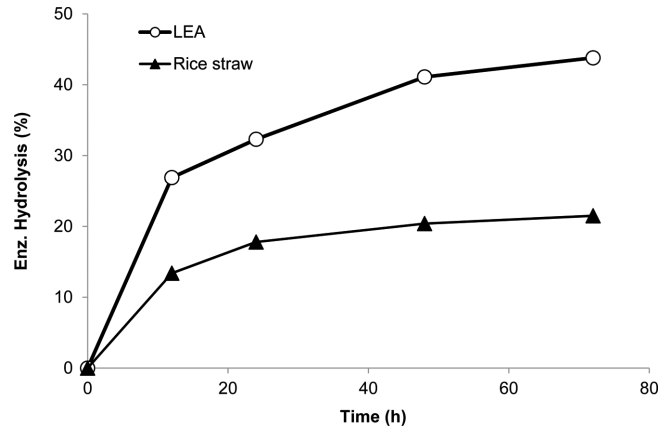


Fig. 2. Enzymatic hydrolysis of untreated lipid extracted algae and rice straw. Substrate concentration 5% (w/v), pH 4.8, temperature 50 °C, Celluclast 1.5L (60 FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

된 이탄당인 셀로바이오스와 당당인 글루코오스가 당화효소에 end-production inhibition을 가함으로 높은 고체비 실험의 경우, 완충용액의 부피가 적어 생산된 셀로바이오스와 글루코오스의 농도가 높아짐에 따라 효소반응이 저해됐다고 해석할 수 있다[10]. 당화 72시간에서 고체비 5%(w/v)에서 43.8%를 얻을 수 있었으며 이는 고체비 2.5%(w/v)에 비해 용수 및 폐수발생 감소의 경제적인 측면에서 적합도가 높아 향후 실험에 5%(w/v) 고체비를 적용하였다.

목질계분해효소인 셀룰레이즈의 탈지미세조류에 대한 당화성능을 평가하기 위해 대표적인 목질계 바이오매스인 벼짚과 효소 당화율과 비교하여 Fig. 2에 나타냈다. 전처리를 하지 않은 벼짚에 72시간 효소당화를 수행했을 경우, 21.5% 당화율을 확인할 수 있었는데, 벼짚이 초본류로 밀도가 낮아 다른 목질계 바이오매스에 비해 용액에 의한 swelling으로 효소침투를 위한 공간이 확보돼 전처리 공정을 생략해도 당화율이 비교적 높은 것으로 알려져 있다. 전처리를 하지 않은 미세조류의 경우, 당화율이 72시간 기준 43.8%로 벼짚에 비해 상대적으로 높은 경향을 보였는데, 이는 앞에서 기술한 바와 같이 탈지미세조류에는 리그닌과 헤미셀룰로오스의 함량이 낮아 2차세포벽이 효소작용에 대한 물리적 방어를 하지 못해 셀룰로오스에 대한 효소의 접근성(accessibility)이 높기 때문이라 해석된다. 탈지미세조류는 목질계 바이오매스에 비해 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 함량이 낮아 높은 농도의 발효당 생산을 위해서는 기질 투입량이 많아야 된다는 단점을 지니지만 리그닌 부재로 인한 당화율이 높아 효소 사용량이 적고 당화속도가 빠르다는 장점을 지닌다. 셀룰로오스 함량이 낮은 탈지미세조류의 단점 극복을 위해 향후 셀룰로오스 함량이 높은 미세조류를 선정하여 발효당 생산을 높이는 방안과 함께 지질 추출 시 셀룰로오스 손실이 적은 공정을 개발하여 발효당 생산을 증대시킨다면 기존 목질계에 비해 전처리/당화 비용과 공정 시간을 획기적으로 감소시킬 수 있는 탈지미세조류 적합형 전처리 공정 개발이 가능하겠다.

3-3. 열수전처리 조건 최적화

탈지미세조류를 이용한 열수전처리 공정조건이 당화율에 미치는 영향을 평가하기 위해 전처리 온도, 황산농도와 전처리 시간의 변화에 따른 당화율을 측정하였다. 전처리 온도가 당화율에 미치는 영향을

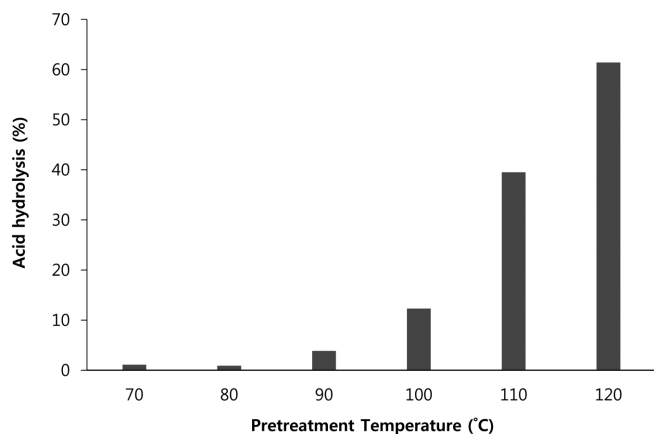


Fig. 3. Effect of pretreatment temperature on the acid hydrolysis of lipid extracted algae. Substrate concentration 5% (w/v), pH 4.8, pretreatment time of 50 min, 1 mol H₂SO₄, Celluclast 1.5L (60 FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

평가하기 위해 1 mol 황산을 이용하여 온도 조건을 변경하여 50분 간 산당화를 진행하였다(Fig. 3). 생산되는 글루코오스의 농도는 전처리 온도에 크게 영향을 받으며 온도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 100 °C 이하의 전처리 온도에서는 당화율이 20% 이하였으나 110 °C 이상의 온도에서부터 크게 증가하여 120 °C에서 61.4% 당화율을 얻을 수 있었다. 목질계 바이오매스의 약산을 이용한 전처리의 경우 일반적으로 170~220 °C 온도범위에서 진행되는 데, 탈지미세조류의 황산 열수전처리에 있어 120 °C의 낮은 온도 조건을 부여함에도 불구하고 61.4%의 높은 당화율을 얻을 수 있었다 [11,12]. 이러한 결과는 탈지미세조류 세포벽의 리그닌 부재에 따라 셀룰로오스를 보호하는 2차세포벽이 없어 산용액이 셀룰로오스의 glycosidic 결합을 효과적으로 파괴하여 셀룰로오스를 구성하고 있는 결합이 효과적으로 분해됐기 때문이라 판단된다.

열수전처리에 첨가한 황산의 농도가 탈지미세조류의 당화율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 황산의 농도를 0~2 mol로 조절하여 120 °C 조건에서 50분 산당화를 진행하여 얻은 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 황산 열수전처리로 생성되는 글루코오스의 양은 황산농도가 증가함에 따라 비례적으로 증가하는 경향을 보이며 2 mol 황산

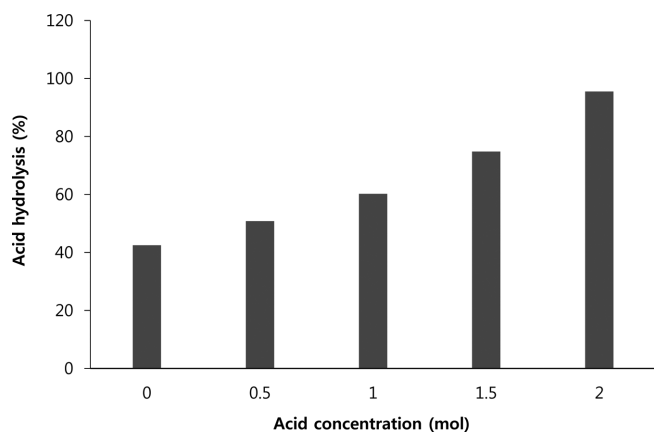


Fig. 4. Effect of concentration of H₂SO₄ on the acid hydrolysis of lipid extracted algae. Substrate concentration 5% (w/v), pH 4.8, pretreatment time of 50 min, temperature 50 °C, Celluclast 1.5L (60 FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

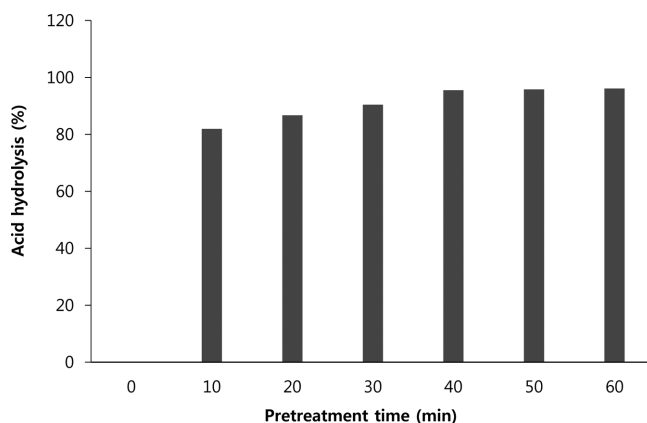


Fig. 5. Effect of concentration of pretreatment time on the acid hydrolysis of lipid extracted algae. Substrate concentration 5% (w/v), pH 4.8, 2 mol H₂SO₄, temperature 120 °C, Celluclast 1.5L (60 FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

처리 시 95.5%의 높은 당화율을 확인할 수 있었다. 황산을 첨가하지 않은 황산 열수전처리의 경우에도 42.5%의 높은 당화율을 보였는데 이는 탈수미세조류의 헤미셀룰로오스에 포함 된 acetyl group의 열분해에 의한 acetic acid 생산으로 인한 자동 산분해(auto hydrolysis)를 통해 산이 생산되고 셀룰로오스가 분해되기 때문이다[11]. 모든 실험 범위에서 높은 당화율을 얻을 수 있었는데, 이는 탈지미세조류가 전처리가 용이한 바이오매스로 높은 산당화율을 보이며 황산 열수전처리 후 별도의 효소당화 과정이 없는 발효당 생산이 가능하다는 결론을 얻을 수 있다.

탈지미세조류를 이용한 황산 열수전처리로 단당류를 생산함에 있어 공정시간의 단축은 운전비용을 감소시키고 생산성을 높여 생산가 절감에 기여한다[13]. 당화율이 크게 감소하지 않는 최단 공정시간 확보를 위해 황산 열수전처리 시간이 당화율에 미치는 영향을 평가하였을 때, 반응시간 증가에 따른 당화율 증가를 확인할 수 있었으며 60분 전처리 조건에서 96.1% 당화율을 얻을 수 있었다. 황산 열수전처리를 10분간 수행한 조건에서도 81.9%의 높은 당화율을 얻을 수 있었는데, 앞서 언급한 바와 같이 탈지미세조류는 리그닌을 불포함하고 헤미셀룰로오스 함량이 낮아 2차 세포벽의 강도가 약해 산촉매에 의한 셀룰로오스의 분해가 매우 용이함을 재확인 할 수 있다. 전처리 40분 이후에 당화율은 95.5~96.1%로 큰 증가를 보이지 않고 있어 40분 황산 열수전처리를 경제적인 전처리공정으로 선택하였다.

탈지미세조류의 당화율에 미치는 전처리 온도, 황산농도와 전처리 시간의 영향을 평가했을 때, 온도와 황산농도의 영향이 큰 것을 알 수 있었으며 온도와 황산농도가 당화율에 주는 교차효과를 Fig. 6에 나타냈다. 모든 온도조건에서 황산농도 0.5 mol까지는 당화율 증가에 미치는 영향이 크지 않았으며 1 mol 부터 당화율이 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 반면 온도 증가는 모든 황산농도 조건에서 당화율을 증가시킴을 확인할 수 있었으며 120 °C의 낮은 온도 조건에서 95%이상 당화율을 얻을 수 있었다. 탈지미세조류는 목질계 바이오매스에 비해 탄수화물의 함량이 떨어지는 단점을 지니나 전처리에 소모되는 에너지 비용이 적고 반응시간이 짧아 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 전분과 같은 탄수화물 함량이 증가 된 탈지미세조류를 이용할 때 목질계 대비 경쟁력 있는 발효당 생산 공정이 될 것으로 보인다.

References

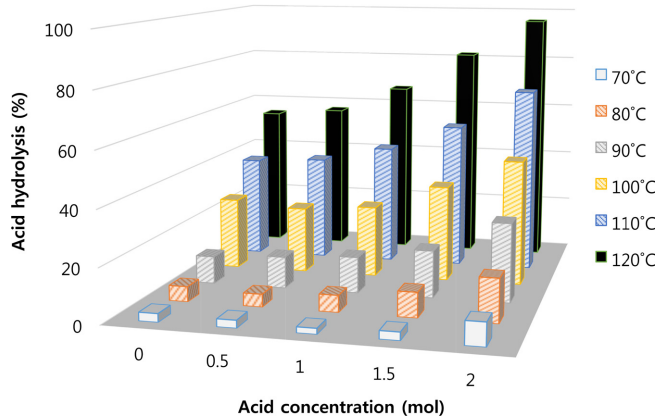


Fig. 6. Interactive effects of acid pretreatment temperature and acid concentration on the acid hydrolysis of lipid extracted algae. Substrate concentration 5% (w/v), pH 4.8, pretreatment time of 40 min, Celluclast 1.5L (60FPU/ml), Novozyme 188 (25 CBU/ml).

4. 결 론

본 연구에서는 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산의 부산물인 탈지미세조류 세포벽 유래 셀룰로오스를 황산 열수전처리로 분해하여 효소첨가 없이 단당류인 글루코오스 생산을 시도하였다. 전처리가 수행되지 않은 탈지미세조류에 효소당화를 통한 글루코오스 생산을 시도했을 때, 72시간에서 최대 당화율 45.1%를 얻을 수 있었는데, 이는 기존 목질계 바이오매스인 벚짚의 비전처리 효소당화율인 21.5% 대비 2.0배 높은 결과로 탈지미세조류로부터 효소를 이용한 당생산이 목질계에 비해 용이하고 경제적임을 확인할 수 있었다. 탈지미세조류에 황산 열수전처리를 적용하여 글루코오스의 효과적이 생산을 위해 전처리 조건을 최적화를 수행했을 때 120 °C, 2 mol과 40분 조건에서 95.9% 당화율을 얻을 수 있었는데 이는 72시간에서 효소당화의 최대 당화율인 45.1% 대비 2.1배 향상 된 결과이다. 탈지미세조류로부터 발효당 생산에 있어 황산 열수전처리가 효소당화에 비해 당화율과 생산성이 높음을 확인할 수 있었고 황산 열수전처리를 통해 120 °C 이하의 낮은 온도 조건에 95%이상의 높은 당화율을 얻을 수 있어 효소당화 공정이 필요 없는 무효소 당화공정 설계가 가능함을 확인하였다.

감 사

이 논문은 해양수산부의 재원으로 해양생명공학기술개발사업(PJT200255, 해양미세조류 이용 바이오디젤 생산기술 개발) 연구개발비 지원에 의해 수행되었습니다.

1. McLaren, J. S., "Crop Biotechnology Provides an Opportunity to Develop a Sustainable Future," *Trends Biotechnol.*, **23**, 339-342(2005).
2. Shin, H. J., Park, J. H., Jung, W. K., Cho, H. and Kim, S. W., "Development of Biorefinery Process using Microalgae," *J. Korean Soc. Precision Eng.*, **28**, 154-167(2011).
3. Kloareg, B. and Quatrano, R. S., "Structure of the Cell Walls of Marine Algae and Ecophysiological Functions of the Matrix Polysaccharides," *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **26**, 259-315(1988).
4. Yun, Y. M., Jung, K. W., Kim, D. H., Oh, Y. K. and Shin, H. S., "Optimization of Bio-H₂ Production from Acid Pretreated Microalgal Biomass," *J. Org. Resour. Recycle Assoc.*, **20**, 78-86(2012).
5. National Renewable Energy Laboratory, "Standard Biomass Analytical Procedures," http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html.
6. Shrestha, R. K., Hur, O. S. and Kim, T. H., "Pretreatment of Corn Stover for Improved Enzymatic Saccharification using Ammonia Circulation Reactor (ACR)," *Korean Chem. Eng. Res.*, **51**, 335-341(2013).
7. Ahn, S. J., Cayetano, R. D., Kim, T. H. and Kim, J. S., "Lactic Acid Production from Hydrolysate of Pretreated Cellulosic Biomass by *Lactobacillus Rhamnosus*," *Korean Chem. Eng. Res.*, **53**, 1-5 (2015).
8. Cayetano, R. D., Kim, T. H. and Um, B. H., "Bioconversion Strategy in Conversion of Lignocellulosic Biomass upon Various Pretreatment Methods using Sulfuric Acid and Aqueous Ammonia," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**, 45-51(2014).
9. Lee, S. B., Jung, S. K. and Lee, J. D., "Production of Rice Straw Based Cellulosic Ethanol Using Acidic Saccharification," *Appl. Chem. Eng.*, **21**, 349-352(2010).
10. Andrić, P., Meyer, A. S., Jensen, P. A. and Dam-Johansen, K., "Reactor Design for Minimizing Product Inhibition During Enzymatic Lignocellulose Hydrolysis," *Biotechnol. Adv.*, **28**, 407-425 (2010).
11. Carvalho, F., Duarte, L. C. and Gírio, F. M., "Hemicellulose Biorefineries: a Review on Biomass Pretreatments," *J. Sci. Ind. Res.*, **67**, 849-864(2008).
12. Mosier, N., Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M. R., "Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass," *Bioresource Technol.*, **96**, 673-686(2005).
13. Liu, C. G. and Wyman, C. E., "Partial Flow of Compressed-Hot Water Through Corn Stover to Enhance Hemicellulose Sugar Recovery and Enzymatic Digestibility of Cellulose," *Bioresource Technol.*, **96**, 1978-1985(2005).