J. Korean Ind. Eng. Chem., Vol. 20, No. 3, June 2009, 290-295

*Saccharomyces cerevisiae*에 의한 Agar로부터 바이오 에탄올 생산

이성목 · 유병조* · 김영민 · 최수정 · 하종명 · 이재화†

신라대학교 공과대학 생명공학과, *삼성종합기술원
(2009년 2월 12일 접수, 2009년 3월 11일 채택)

Production of Bio-ethanol from Agar using *Saccharomyces cerevisiae*

Sung-Mok Lee, Byung Jo Yu*, Young Min Kim, Soo-Jeong Choi, Jong-Myung Ha, and Jae-Hwa Lee†

Department of Bioscience and Biotechnology, College of Engineering, Silla University, Busan 617-736, Korea
**Bio & Health Group, Emerging Center, Samsung Advanced Institute of Technology, Kyunggi-Do 446-712, Korea*
(Received February 12, 2009; accepted March 11, 2009)

해조류 중에서도 홍조류의 agar는 D-galactose와 3,6-anhydro-L-galactose로 구성되어 있기 때문에 이를 분해하면 바이오 에탄올을 생산 할 수 있는 가능성이 높다. 본 연구에서는 열처리와 산 처리를 이용하여 agar를 당화하고 이를 통해 바이오 에탄올을 생산하고자 한다. 바이오 에탄올을 생산하기 위하여 전처리 된 agar에 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM1129를 접종하여 발효하였다. Agar로부터 환원당 생성의 최적조건은 0.1 N HCl이었고, 120 ℃에서 15 min 반응하는 것으로 확인되었다. 발효균주 성장을 위한 최적 염 농도는 0.1 N NaCl로 17.88 g/L까지 성장하였으며, 0.1 N 이상의 농도에서 6.78～10.76 g/L로 성장이 감소했다. 그리고 agar 16% 농도에서 최적 전처리에 의한 에탄올 생산은 10.16 g/L이었다.

Red-algae agar, consisting of D-galactose and 3, 6-anhydro-L-galactose, is usable for bio-ethanol production if hydrolyzed to monomer unit. The objective of this study is to produce bio-ethanol from agar using the heat and acid-treatment. Bio-ethanol was produced by *Saccharomyces cerevisiae* KCCM1129 strains using agar-pretreatment. The optimal condition for reducing sugar conversion by agar was found to be 15 min reaction at a HCl concentration of 0.1 N and 120 ℃. The optimum concentration for maximum cell growth was 0.1 N NaCl (17.88 g/L). Over 0.1 N NaCl, the cell growth decreased to 6.78～10.76 g/L. At 16% agar concentration, the ethanol production obtained by optimum pretreatment was found to be 10.16 g/L.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae, sea weed, bio-ethanol, agar, saccharification*

1. 서 론

산업혁명 이후 화석연료의 과다 사용으로 이산화탄소의 농도가 빙하기 시대에 180 ppm이었던 것이 최근 370 ppm까지 급격히 증가했다[1]. 이산화탄소의 증가로 인해 지난 100년 간 지구 연평균 기온은 0.74 ℃ 상승 했으며, 평균 해수면은 연간 1.8 mm 상승하고 있다. 전 세계적으로 온난화 및 기상이변으로 인하여 피해를 입고 있으며[2], 기후변화를 막기 위해서 도쿄의정서, 발리기후협약 등의 UN 차원에서 노력이 진행 중이다. 이러한 협약에 따라 이행 대상국가들은 이산화탄소 배출량에 제한을 받게 되었고, 그로 인해 온난화의 주범인 CO_2를 감소하기 위하여 전세계적으로 화석연료를 대체할 수 있고 지속적으로 생산 가능한 에너지원을 개발 중이다. 휘발유의 대체 연료로는 바이오 매스를 이용한 바이오 에탄올의 생산이 유력한 대체 에너지원으로 알려져 있으며, 현재 브라질과 미국을 중심으로 상업적으로 생산되고 있다[3].

바이오 에탄올을 생산할 수 있는 바이오 매스에는 대표적으로 사탕수수와 옥수수 같은 곡물류와 임업 및 농업 부산물인 목질계 바이오 매스가 있다[4,5]. 그러나 이러한 바이오 매스는 식량경쟁과 토양의 황폐화 같은 환경파괴 문제 그리고 재배면적의 한정성 및 영양분 공급의 어려움 등으로 인해 생산에 한계가 있다. 따라서 육상 자원에 비해 상대적으로 풍부한 해양자원인 해조류를 바이오 에탄올 생산에 이용하는 것이 경제적 환경적으로 많은 장점을 지니고 있다.

홍조류의 주요 당 성분에는 agar, carrageenan, porphyran 등이 있다[6]. 홍조류 세포벽의 구성성분이며, 점질성의 난소화성 복합다당류인 agar는 주로 우뭇가사리속(*Gellidium sp.*), 개우뭇속(*Pterocladia sp.*), 꼬시래기속(*Gacilaria sp.*) 및 싹새기속(*Ahnfeltia sp.*)에 속하는 홍조류에서 생산된다[7]. Carrageenan의 경우 주로 돌가사리목(*Gigartinales*)과 지누아리목(*Cryjptonemiales*)에서 추출되는 산성의 점질 다당류로 agar에 비해 황산기를 다량 함유하고 있어 응고성이 약한 대신 점성이 크다. Porphyran의 경우에는 *Porphyra yezoensis*에 다량 함유되어 있으며 주로 세포간 충전물질로 알려져 있다. 홍조류의 주요 당 성분인 agar, carrageenan 및 porphyran은 복잡한 구조를 가지는 해양유래의 황산염 다당류이며, 기본구조를 이루는 galactose에 황산기가 치환된 위치에 따라 구별 된다. Carrageenan의 경우 C-2 또는 C-4에, porphyr-

† 교신저자 (e-mail: jhalee@silla.ac.kr)

an의 경우는 C-6에 황산기가 결합하고 있으며, agar의 경우 구성 성분 중 약 30%를 차지하는 agaropectin에 황산기가 결합되어 있다[8]. 홍조류의 주요 탄수화물 중 carrageenan의 경우 황산기의 함량이 높아 전처리에 의한 유용 당 성분의 생성량이 상대적으로 적을 것으로 예상된다. 그리고 porphyran은 식용으로 섭취하는 김에 다량 존재하기 때문에 홍조류를 이용한 바이오 에탄올 생산에는 agar를 이용하는 것이 가장 경제적일 것으로 생각된다.

Agar는 황산기 함량이 적은 agarose와 황산기의 함량이 높은 agaropectin으로 이루어져 있다. Agarose는 D-galactose와 3,6-anhydro-L-galactose로 구성되고, agaropectin은 galactose가 황산 ester화 된 agarose와 D-glucuronic acid 그리고 소량의 pyruvic acid로 이루어져 있다[9,10]. Agar에 존재하는 agaropectin은 겔 강도를 떨어뜨리는 작용을 하므로 고강도의 한천 제조를 위해 알칼리 처리를 한다.

홍조류 다당류인 agar는 효소를 이용하거나[11-13] 물리적[14] 또는 화학적[15,16] 방법을 이용하여 분해될 수 있다. 다당류인 agar를 분해하여 생성된 중합도(degree of polymerization, DP)가 2～8 사이인 올리고당(oligosaccharide)은 전분의 노화 방지, 항충치성, 및 항균활성 그리고 콜레스테롤 증가 억제 및 체외 배출 작용 등 다양한 생리적 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다[17-19]. 효소적 방법을 이용한 한천 올리고당(agar oligosaccharide)의 제조는 생산속도가 느리고 효소 사용으로 인한 고비용과 열 불안정성 및 활성이 낮다는 단점을 가지고 있다. 또한 α, β형의 두 가지 agarase를 필요로 하고 액화 상태의 agar를 처리하기 위해서는 내열성 효소의 개발이 필요하다. 이에 비해 산을 이용한 화학적 가수분해의 한천 올리고당 생산은 반응시간이 짧고 온도 조절이나 산 강도에 따라 agar 가수분해를 조절하여 목적으로 하는 중합도의 올리고당을 생산할 수 있는 장점이 있다[20,21]. 따라서 본 연구에서는 적절한 전처리 조건을 찾아서 agar를 올리고당보다 더 가수분해 시켜 단당류인 galactose를 생산하고, 에탄올 발효균주인 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하여 발효에 의한 바이오 에탄올 생산조건을 검토하였다.

2. 실 험

2.1. 균주 및 배지

에탄올 발효균주로는 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM1129를 이용하였으며, 균주의 보관은 20% glycerol로 하여, -70 ℃에서 보관 하였다. Stock한 균주는 YPD배지(glucose 20.0 g/L, peptone 20.0 g/L, yeast extract 10.0 g/L)를 사용하여 300 mL flask에서 working volume을 100 mL로 하여, 48 h 동안 30 ℃, 150 rpm에서 진탕 배양시킨 후 사용하였다. 알코올 발효에는 전 배양한 효모 3 mL을 접종하였으며 pH는 배양 전 과정에서 인위적으로 조절 하지 않았다.

Agar 전처리 용액을 이용한 에탄올 발효에는 제한배지를 사용하였으며, 배지 구성 성분은 $(NH_4)_2SO_4$ 10.8 g/L, H_2KPO_4 5.0 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.1 g/L, agar 20.0 g/L이었다. Agar 농도에 따른 에탄올 발효 실험은 배지성분은 동일하게 유지하고 agar의 농도를 20.0 g/L, 40.0 g/L, 80.0 g/L, 120.0 g/L로 달리하였다.

Saccharomyces cerevisiae KCCM1129를 이용한 에탄올 발효 생산량을 비교하기 위해 glucose와 galactose를 기질로 이용하여 agar 전처리 용액과 동일한 조건에서 발효를 진행하였다.

2.2. 환원당 생성을 위한 agar 전처리

홍조류인 우뭇가사리에 대한 화학적 전처리 조건을 최적화하기 위해 우뭇가사리의 주요 고분자 다당류 성분인 agar를 H_2SO_4, HCl, Na_2SO_4, NaOH의 산과 염기 이용하여 0.01 N에서 2.0 N까지 다양한 농도로 처리한 후 120 ℃에서 15 min 동안 고압멸균하고 남아있는 잔류물질의 처리를 위해 150 rpm에서 1 h 동안 교반하였다. 전처리에 따른 환원당 생성량 측정은 DNS 법을 이용하였다. 즉 시료 500 μL에 DNS용액 2 mL을 가한 후 10 min 간 가열한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였으며, 표준 검량선은 galactose를 이용하여 생성된 환원당을 정량하였다. 전환율은(생성된 환원당 / 전처리에 사용한 agar) × 100으로 계산 하였다.

2.3. 에탄올 함량 측정

생성된 에탄올의 정량을 위해 발효된 시료를 14000 rpm에서 원심분리 후 상층액을 GC를 이용하여 분석하였다. GC는 HP 5890 series Ⅱ를 사용하였고, 칼럼은 HP-FFAP (Cross-Linked PEG-TPA 30 m/0.25 mm/0.25 μL)을 사용하였다. 이동상은 N_2를 0.6 mL/min로 사용하였으며, injection temperature 150 ℃, detector temperature 200 ℃, 승온 조건은 45 ℃ (2 min)/(1 ℃/min)/50 ℃ (1 min)/(20 ℃/min)/90 ℃ (1 min)/(30 ℃/min)/150 ℃ (1 min)이었다. 분리비는 70 : 1로 했으며 내부 표준물질로 1%의 isopropanol을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Agar의 물리화학적 전처리

에탄올 발효에 이용 가능한 단당류로 가수분해 하기 위해 2% agar를 산과 염기로 처리 하여 고압멸균 하였다. 전처리 결과 알칼리 처리한 agar는 갈색으로 변했으며, 실온에서 고형화 되었으나 산 처리한 agar는 저온에서도 고형화되지 않고 액화상태로 존재하였다. 따라서 agar를 고형화하지 않는 H_2SO_4와 HCl을 화학적 전처리에 이용하기로 결정하였다. 전처리에 필요한 최적의 산 농도를 결정하기 위하여 0.01 N에서 2.0 N까지 농도를 달리하여 실험하였으며, 또한 온도조건도 90 ℃, 105 ℃, 120 ℃로 달리하여 15 min 동안 반응시켰다. 산 전처리 후 배지 내에 부유물이 존재하는 것을 확인 할 수 있었으며, 이를 제거하기 위해 30 ℃, 150 rpm에서 1 h 동안 교반 시켰다. 교반 후에도 작은 입자가 미세하게 남았는데, 이것은 균의 성장 측정 및 DNS법에 의한 환원당 측정에 방해되므로 여과지를 이용해 제거하였다. 여과한 전처리 용액은 각각의 전처리에 의한 당화율을 비교하기 위해 DNS법을 이용하여 환원당을 정량하였다.

90 ℃에서 agar 전처리 결과, HCl을 이용한 가수분해는 0.5 N에서 90% 이상의 높은 전환율을 보였으며, 그 이상의 농도에서는 전환율의 뚜렷한 변화가 나타나지 않았다. H_2SO_4를 이용한 가수분해에서는 0.01 N의 경우 전처리 용액이 실온에서 고형화하여 환원당을 측정할 수 없었으며, 산 농도 증가에 따라 전환율이 급격히 증가하여 2.0 N에서 66.12%까지 도달하였다(Figure 1(a)). 전처리 온도를 105 ℃로 증가시킨 결과 양쪽 모두 당화 수율이 증가 하였다. H_2SO_4을 이용한 당화는 0.5 N 이상의 농도에서 전처리 수율이 90%를 넘었으며, 동일한 조건에서 HCl은 100%를 넘었다(Figure 1(b)). 120 ℃에서 전처리 한 결과 양쪽 모두 최적 전처리 농도가 0.1 N로 낮아졌으며, 전환율은 110%에 도달하였다(Figure 1(c)). 이처럼 높은 전환율은 전처리 할 때 생성되는 가수분해물이 DNS 시약에 galcatose보다 더욱 민감하게 반응하기 때문인 것으로 생각된다.

120 ℃에서는 0.1 N 이상의 산 처리에서 전처리 효과가 감소하는 것으로 나타났는데, 이는 반응 후 용액의 색이 갈색으로 변하는 것으

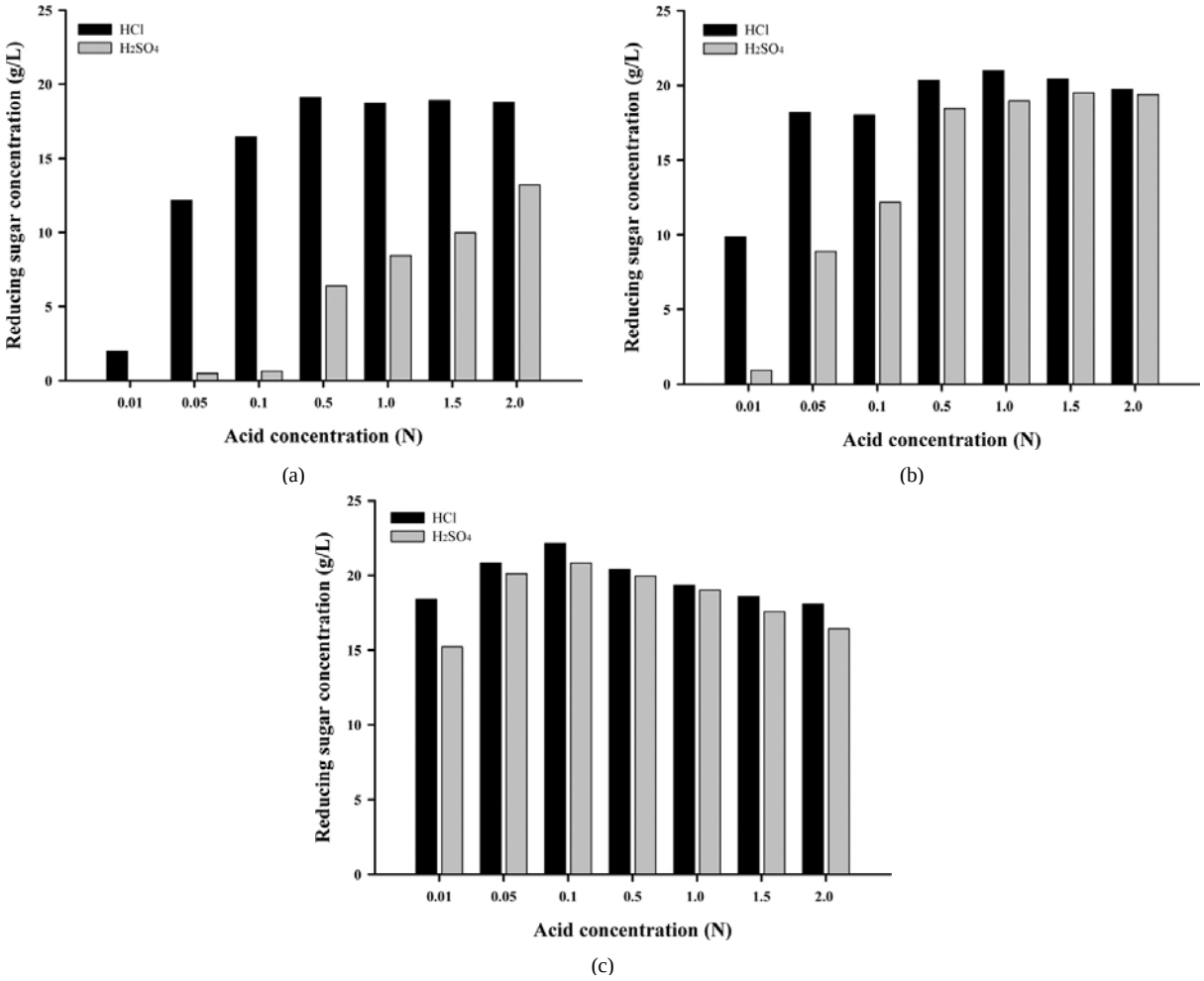

Figure 1. Hydrolysis of Agar treated with various acid concentration and temperature: (a) 90 ℃, (b) 105 ℃, (c) 120 ℃. The agar was heat-treated 2 g/100 mL agar concentration, for 15 min.

로 보아 고농도 산과 함께 고온에서 반응하여 당이 갈변 현상을 나타낸 것으로 보인다.

산의 농도에 따른 전처리 효과는 온도가 높아질수록 최적 전처리 농도가 감소하는 것을 볼 수 있었다. 따라서 최적의 전처리 효과를 얻기 위해서는 산의 사용량을 줄이고 반응온도를 높이는 것이 agar의 당화에 유리하다. 온도에 따른 전처리 효율의 증가는 H_2SO_4보다는 HCl에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 온도 및 산의 농도에 따른 DNS 측정 결과를 비교해 보았을 때 0.1 N HCl을 120 ℃, 15 min 동안 고압멸균하는 것이 agar당화를 위한 최적 조건인 것으로 확인되었다.

3.2. 고농도 Agar 전처리

위의 결과를 바탕으로 하여 고농도 agar에서의 산 전처리 농도를 비교하기 위해 온도를 121 ℃로 일정하게 유지 시키고 agar의 농도를 4~20%까지 달리하여 실험하였다. Agar 4% 일 때 전환율이 105%로 2%에서 보다 당화 수율이 약 5% 정도 감소했으며(Figure 2(a)), 8%, 12%로 agar 농도가 증가할수록 전환율이 감소하였다(Figure 2(b), (c)). 이러한 전환율의 감소는 H_2SO_4에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. Agar 12% 전처리 실험에서 0.01 N 산 처리는 실온에서 고형화되어 환원당을 측정할 수 없었다. 그러나 대체적으로 agar 농도 증가에 따른 산 농도의 가수분해 효과는 크게 감소하지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 agar의 농도에 관계없이 산 농도를 0.1 N로 하여 전처리하는 것이 최적일 것으로 생각되며, 이는 산이 직접적으로 agar와 반응을 일으키는 것이 아니라 열과 함께 가수분해 반응을 촉진하기 때문인 것으로 생각된다. Agar 2%와 같은 저농도 전처리와 같이 12%의 고농도 agar 전처리에서도 산의 농도를 0.1 N 이상으로 높여 반응시켰을 때 환원당의 생성 수율이 감소하는 경향을 나타냈다.

3.3. NaCl 농도에 따른 성장저해

Saccharomyces 속은 NaCl에 의해 에탄올 발효 및 생장에 영향을 받는 것으로 알려져 있다[22,23]. 불충분한 물 세척으로 잔류할 수 있는 NaCl과 agar의 산 전처리 후 중화로 인해 생성되는 NaCl이 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM1129의 생장에 미치는 영향을 확인하기 위해 NaCl의 농도에 따른 성장 속도를 확인하였다. NaCl의 농도를 산 전처리 농도와 마찬가지로 0.01 M에서 2.0 M까지 단계별로 실험하였다. NaCl의 농도에 따른 성장은 0.1 M 농도까지는 성장이 약간 증가하다가 그 이후 급격하게 성장을 저해하는 것으로 나타났다(Table 1). 따라서 0.1 N HCl을 이용한 전처리에서 생기는 NaCl에 대한 저해는 없을 것으로 생각되며, 에탄올 발효 저해 요인은 agar 자체에서 전처리

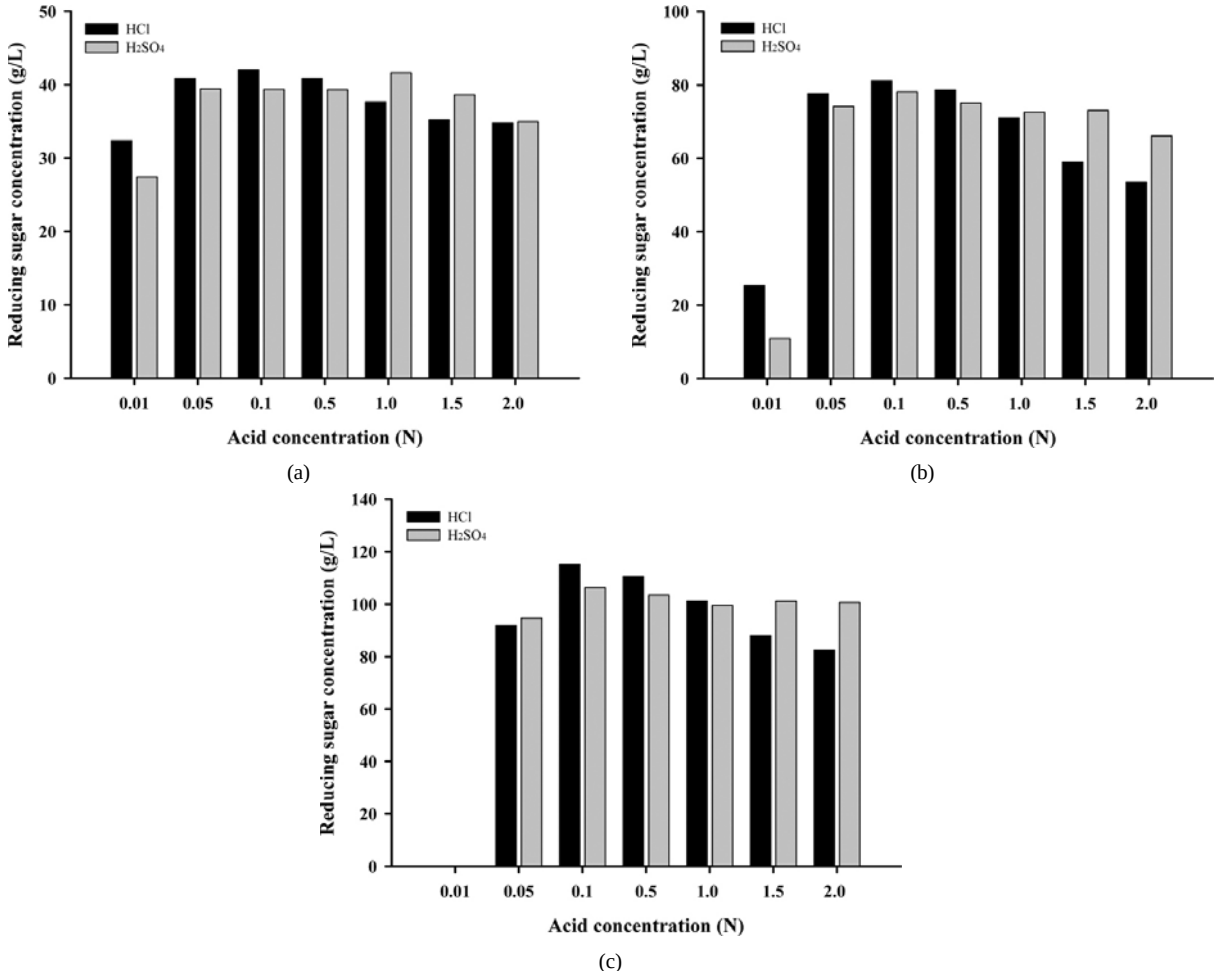

Figure 2. Hydrolysis of Agar treated with various acid concentration and Agar concentrations: (a) 40 g/L, (b) 80 g/L, (c) 120 g/L. The agar was heat-treated at 120 ℃ for 15 min.

Table 1. Effect of Sodium Chloride Concentration on the Cell Growth

NaCl concentration (Normal)	Control	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0
Initial substrate (g/L)	20.22	20.83	20.66	20.93	20.98	19.91
Final substrate (g/L)	0.40	0.35	0.39	0.37	0.35	0.67
Consumption of substrate (g)	19.82	20.48	20.27	20.56	20.63	19.24
Cell growth ($O.D._{600}$)	14.48	14.98	15.30	15.59	9.56	6.02
Dry cell weight (g)	16.41	17.19	17.31	17.88	10.76	6.78

과정 동안 생성되는 부산물에 의한 영향과 agaropectin의 분해산물을 이용하지 못하기 때문에 발생하는 것으로 보인다.

3.4. 발효 및 에탄올 생산

에탄올 발효는 YPD 배지에서 키운 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 1129를 발효균주로 이용하여 300 mL serum bottles에서 working volume 100 mL에 전 배양 균주 3 mL 접종하여 배양하였다. 배양조건은 30 ℃, 150 rpm으로 하였으며, 제한배지를 사용하였다.

발효에 따른 세포의 성장은 agar 12%까지는 큰 변화가 없었으나, 그 이상의 농도에서는 세포의 성장이 급격하게 감소하는 것으로 확인되었다. Agar 2%에서 발효에 의한 에탄올 생산량을 측정한 결과 최대 에탄올 생산량은 4.32 g/L, 전환 수율은 21.59%로 나타났으며, 동일한 농도의 galactose를 이용한 에탄올 생산량인 8.93 g/L의 약 48.38%로 나타났다(Figure 3). 고농도 agar를 사용했을 때 배지 내의 에탄올 생산량 변화를 확인 하기 위해 4～20%까지 agar의 농도를 높여 에탄올 발효 실험을 진행하였다. Agar농도의 증가에 따라 agar 16%까지는 에탄올 농도가 10.14 g/L로 증가하였으나 agar 20%에서는 에탄올 생산량이 8.75 g/L로 감소하였다(Table 2). 따라서 agar 농도 증가에 따른 최대 에탄올 생산량은 agar 16%에서 10.14 g/L로 나타났고, 이는 기질에 따른 세포성장 저해 농도인 agar 12%보다는 높은 것으로 확인되었

Table 2. Ethanol Production from Agar Pretreatment

Agar concentration (g/L)	20	40	80	120	160	200
Initial substrate (g/L)	17.48	32.90	65.99	85.48	117.21	133.99
Final substrate (g/L)	6.65	10.23	23.83	36.07	62.89	77.32
Consumption of substrate (g)	10.84	22.67	42.16	49.41	54.32	56.67
Cell growth ($O.D._{600}$)	3.95	4.1	3.9	3.79	2.56	1.41
Dry cell weight (g)	4.45	4.61	4.39	4.27	2.88	1.59
Ethanol (g/L)	4.32	5.31	7.54	8.64	10.14	8.45
Ethanol yield	21.59	13.28	9.42	7.20	6.34	4.37

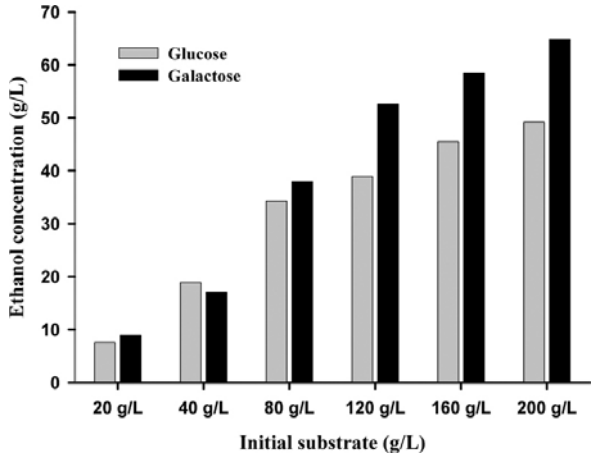

Figure 3. Ethanol production from glucose and galactose.

다. 고농도에서의 에탄올 발효는 galactose와 비교할 때 생산수율이 20 g/L에서 48.38%까지 도달했으나 고농도로 가면서 13.04%까지 급격히 감소했다. 이는 전처리시 생성되는 분산물이나 혹은 기질자체에 의한 발효저해가 일어나기 때문인 것으로 생각된다.

환원당 소모량으로 보아 전체 기질의 약 38～57%가 에탄올 발효와 세포성장에 사용되었다. 따라서 DNS에 의해 검출되는 환원당을 모두 소모하지는 못하고 배지 내에 잔존하는 탄소원으로 존재할 것으로 생각된다. 잔존하는 탄소원을 충분히 활용하기 위해서는 물리화학적 처리 조건의 개선을 통한 수율 증가 또는 온화한 조건에서 구성 성분의 파괴를 최소화 하면서 agar를 당화 할 수 있는 고효율agarase의 개발이 필요할 것으로 생각된다.

현재 갈조류를 구성하는 저장성 단당류인 mannintol을 이용한 바이오 에탄올 생산에 대한 연구에서, *Zymobacter palmae*를 발효균주로 접종하여 발효를 통해 mannitol 1.0 g으로부터 0.38 g의 에탄올을 얻은 것으로 보고되어 있다[24]. 본 실험결과에서 agar 1.0 g을 이용해 생산된 바이오 에탄올은 최대 0.22 g으로 mannitol을 이용한 생산 결과 보다 수율이 낮다. 그러나 당화과정에서의 당 손실 및 변성을 최소화 할 수 있는 전처리 공정 개발과 agar에 존재하는 약 30%의 agaropectin을 agarose로 전환할 수 있는 효과적인 기술이 개발된다면 에탄올 생산 수율을 더욱 증가할 수 있을 것으로 생각된다.

4. 결 론

본 연구에서는 홍조류의 주요 구성 다당류인 agar를 물리화학적 분해와 생물학적 발효를 통하여 바이오 에탄올의 생산 가능성을 확인해 보았다. 고분자 다당류로 이루어진 agar를 이용 가능한 단당류로 전환하기 위해 물리적 열 처리와 화학적 산 처리를 이용하여 agar를 가수분해 하였다. Agar의 전처리에 의한 환원당 생성과 발효에 의한 바이오 에탄올의 생산 실험 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다.

Agar 전처리의 경우 열처리에 의해 액화가 가능하나 저온에서의 고형화로 인해 산 처리를 필요로 한다. 그러나 과도한 산 처리 및 열 처리는 환원당 생성을 감소 시키므로 적절한 조건의 확립이 필요하다. 따라서 적절한 전처리 조건을 필요로 하며 실험결과 0.1 N HCl을 이용하여, 120 ℃에서 15 min 동안 열처리에서 agar의 환원당 생성 효율이 110% 이상으로 높게 나왔다. 이는 전처리에서 생성되는 부산물이 galactose보다 더 민감하게 DNS시약과 반응하기 때문인 것으로 생각되며, 생성되는 산물에 대해서는 추가로 성분에 대한 분석이 필요할 것으로 생각된다.

바이오 에탄올 발효균주로는 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하였으며, 환원당의 생산을 최대로 할 수 있는 0.1 N HCl을 이용하여 120 ℃ 에서 15 min 동안 전처리 한 것을 기질로 사용하였다. Agar 2%에서 에탄올 생산량은 4.32 g/L로 나타났으며, 에탄올 생산량을 높이기 위해 실시한 고농도 agar를 이용한 발효실험 결과 agar 16%에서 최대 10.14 g/L의 에탄올 생산을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. J.-I. Park, H.-C. Woo, and J.-H. Lee, *Korean Chem. Eng. Res.*, **46**, 833 (2008).
2. N. E. Tolbert, Regulation of atmospheric CO_2 and O_2 by photosynthetic Carbon Metabolism, ed. J. Preiss, **8**, Oxford University Press, Oxford (1994).
3. A. Hirano, R. Ueda, S. Hirayama, and Y. Ogushi, *Energy.*, **22**, 137 (1997).
4. B. C. Saha and M. A. Cotta, *Enzyme Microb. Technol.*, **41**, 528 (2007).
5. B. Hahn-Hagerdal, M. Galbe, M. F. Gorwa-Grauslund, G. Liden, and G. Zacchi, *Trends Biotechnol.*, **24**, 549 (2006).
6. J.-R. Do, Y.-J. Nam, J.-H. Park, and J.-H. Jo, *J. Kor. Fish. Soc.*, **30**, 428 (1997).
7. H.-I. Kang, M.-S. Ko, H.-J. Kim, S.-W. Kim, and T.-J. Bae, *J. Kor. Fish. Soc.*, **29**, 716 (1996).
8. J.-H. Kim, D.-S. Byun, J. S. Godber, J.-S. Choi, W.-C. Choi, and H.-R. Kim, *Appl Microbiol. Biotechnol.*, **63**, 553 (2004).
9. G. Michel, P. Nyval-Collen, T. Barbeyron, M. Czjzek, and W. Helbert, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **77**, 23 (2007).

10. S. A. Lee, J. U. Kim, J. G. Jung, I. H. Kim, S. H. Lee, S. J. Kim, and J. H. Lee, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 389 (2006).
11. B. Hu, Q. Gong, Y. Wang, Y. Ma, J. Li, and W. Yu, *Anaerobe.*, **12**, 260 (2006).
12. D. S. Joo, S. Y. Cho, and E. H. Lee, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **13**, 378 (1998).
13. Y. Sugano, I. Terada, M. Arita, M. Noma, and T. Matsumoto, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 1549 (1993).
14. C. Y. Lii, C. H. Chen, A. I. Yeh, and V. M. F. Lai, *Food Hydrocolloids.*, **13**, 477 (1999).
15. D. S. Joo, O. S. Kim, S. Y. Cho, and C. H. Lee, *J. Kor. Fish. Soc.*, **36**, 6 (2003).
16. A. Karlsson and S. K. Singh, *Carbohydr. Polym.*, **38**, 7 (1999).
17. D. S. Joo, H. M. Song, J. S. Lee, S. Y. Cho, and E. H. Lee, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **13**, 320 (1998).
18. J.-Y. Kong, S.-K. Bae, S.-H. Hwang, S.-D. Ha, H.-T. Kim, S.-K. Kim, and B.-J. Kim, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **11**, 37 (1996).
19. M.-K. Jang, O. H Lee, K. H. Yoo, D.-G. Lee, and S. H. Lee, *J. life. Sci.*, **17**, 1601 (2007).
20. J.-Y. Kong, New Informations of Oligosaccharides, 359, Yelim media, Seoul (2007).
22. H.-M. Chen, L. Zheng, and X.-J. Yan, *Food Technol. Biotechnol.*, **43**, 29 (2005).
23. S.-K. Paik, H.-S. Yun, K.-H. Sa, I.-S. Kim, I.-K. Rhee, H.-D. Park, C.-B. Yu, and I. Jin, *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 63 (2003).
24. S.-L. Kim, W.-J. Kim, S.-Y. Lee, and S. M. Byun, *J. Kor. Agricultural Chemical Society.*, **27**, 139 (1984).
25. S. J. Horn, I. M. Aasen, and K. Østgaard, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 249 (2000).