ISSN 1738-3935
New & Renewable Energy 2013. 6 Vol. 9, No. 2 http://dx.doi.org/10.7849/ksnre.2013.9.2.005

논문 1

[2013-6-BM-001]

마이크로파를 이용한 다시마의 산 가수분해와 에탄올 생산성: 재래식 가열과 비교

송명기, 나춘기*

Microwave-Assisted Acid-Hydolysis of *Laminaria Japonica* and its Ethanol Productivity: Comparison with Conventional Heating

Myoung-Ki Song and Choon-Ki Na*

Abstract The efficiency of microwave-assisted acid hydrolysis of seaweeds for the production of ethanol was investigated and its effect on hydrolysis into reducing sugar and fermentation into ethanol evaluated as compared with those by conventional heating. A brown seaweed, *Laminaria japonica* (10-100g/L) was hydrolysed under dilute acidic condition (0.5N H_2SO_4, 100℃) with two sorts of heating: microwave irradiation for ≤10min and conventional heating for 10-60min. Microwave-assisted hydrolysis was shown to be more efficient. A similar range of reducing sugar and ethanol yields as with the conventional autoclave heating procedure(≥30min) was observed, but it was obvious that production of ethanol from microwave-assisted hydrolysis had a 3 times faster reaction rate leading to very short production times, lower energy consumption/loss than from the conventional heating mode, and higher biomass loading without significant reducing ethanol yield, thus microwave-assisted acid hydrolysis is a potential alternative method for more effective hydrolysis of *Laminaria japonica*.

Key words Microwave heating(마이크로파 가열), Acid-hydrolysis(산-가수분해), Kelp(다시마), Bioethanol(바이오에탄올)

(접수일 2013. 3. 26, 수정일 2013. 6. 12, 게재확정일 2013. 6. 12)

* 목포대학교 환경공학과 (Department of Environmental Engineering, Mokpo National University)
■ E-mail : nack@mokpo.ac.kr ■ Tel : (061)450-2483 ■ Fax : (061)452-8761

1. 서 론

화석연료의 고갈과 지구 온난화가 점차 심화됨에 따라 화석연료를 대체할 수 있는 신재생 에너지의 개발 및 확보는 국가적으로는 물론 지구환경적인 차원에서 매우 중요한 이슈가 되고 있다. 특히 바이오에탄올은 화석연료를 대체할 수 있는 수송용 연료로 인식되면서 대량 생산이 이루어질 정도로 폭넓게 활용되고 있다. 현재 바이오에탄올 산업은 미국과 브라질이 전체 생산량의 약 70%를 차지할 정도로 주도하고 있으나 농업 부산물을 활용하기 보다는 주산물인 옥수수, 수수 등의 전분질계와 사탕수수, 사탕무우 등의 당질계를 원료로 사용하는 제1세대 바이오에탄올이 주를 이루고 있다. 당질계나

전분질계 바이오매스는 당화와 발효 공정을 통해 쉽게 바이오에탄올을 생산할 수 있지만 식량과 에너지의 경쟁이란 새로운 문제를 불러일으키고 있다.[1-3] 이에 대한 대안으로 재생 가능하면서 저가로 활용 가능한 육상식물계 바이오매스(제2세대 바이오에탄올)와 해조류와 같은 해양생물계 바이오매스(제3세대 바이오에탄올)가 바이오에탄올 생산을 위한 대체 원료로 새로운 관심을 끌고 있다.[4-10]

제2세대 및 제3세대 바이오에탄올 원료들은 난분해성인 리그노셀룰로오스계와 헤미셀룰로오스계로 구성되어 있어, 이들로부터 바이오에탄올을 생산하기 위해서는 전처리 공정이 필요하다. 이에 따라 산 및 알칼리 처리, 열수 처리, 스팀 폭쇄, 초임계 CO_2 처리, 오존 전처리, 생물학적 전처리 등 수많은 방법이 개발되어 있다.[1] 이 중 묽은 황산을 이용한 전처리는 알칼리 처리와 함께 셀룰로오스계 바이오매스의 전처리를 위한 방법으로 가장 널리 활용되고 있다.[11-12] 묽은 산 전처리를 효율적으로 달성하기 위해서는 보통 묽은 산과 바이오매스 혼합체를 고온으로 가열하여야 한다.[13-14] 현재 바이오매스 전처리를 위한 가열방식으로 전도와 대류를 바탕으로 하는 재래식 가열방식이 보편적으로 이용되고 있다. 재래식 가열방식 외에 마이크로파를 이용한 가열방식이 대체 가열방법으로 검토되고 있다. 마이크로파 가열방식에서는 유전체를 포함하는 물질이 전기장 내에서 분자 상호작용을 통해 마이크로파 에너지를 열에너지로 변환시켜 가열된다.[15] 유전체 가열을 통해 전자기 에너지가 열에너지로 변환되는 마이크로파 가열은 내부 발열을 일으키기 때문에 외부 가열방식인 재래식 가열방식에 비해 균일하고 신속하게 가열되면서도 에너지 손실이 낮고 가열 효율이 높다는 장점이 있어 식품산업과 유기화학 분야 등에서 폭넓게 이용되고 있다. 특히 마이크로파는 보다 더 극성인 부분을 선택적으로 가열함에 따라 불균일한 물질 내에 hot spot가 생성되며, 이로 인한 폭발효과는 리그노셀룰로오스 결정구조의 분해를 촉진하는 것으로 알려져 있다.[16] Ooshima 등은 최초로 볏짚과 사탕수수 착즙 잔사의 전처리에서 마이크로파 가열을 이용하였으며 마이크로파 가열이 효소 당화효율을 상승시키는 효과가 있다고 보고하였다.[17] Li 등은 돈분의 황산용액 전처리에서 마이크로파 가열을 적용할 경우 높은 환원당 생성수율, 짧은 반응시간, 낮은 에너지 소비 등의 효과를 얻을 수 있어 마이크로파 가열이 돈분의 당화공정으로 적정한 기술이라고 주장하였다.[18] 최근 Lu 등은 재래식 가열방식에 비해 마이크로파 가열방식이 출력밀도와 에너지 효율이 높아 바이오에탄올의 생산속도를 증가시킬 뿐만 아니라 생산단가를 낮출 수 있다고 보고하였다.[19]

그러나 대부분의 연구가 제2세대인 리그노셀룰로오스계 바이오매스의 효소당화를 위한 전처리 방법으로 마이크로파의 적용성 및 효율성을 검증하는데 집중되어 있을 뿐 마이크로파 처리에 의한 바이오매스의 직접 가수분해-당화효율은 물론 제3세대 바이오매스인 해조류의 가수분해 효율 등에 대해서는 아직까지 검토된 바 없다.

연구자들은 바이오에탄올 생산을 위한 제3세대 바이오매스 자원으로서 해조류의 활용성을 재래식 가열법을 바탕으로 열수, 산 및 알칼리 촉매 가수분해를 통해 평가한 바 있다.[20-21] 그 결과, 해조류의 가수분해 촉매로는 묽은 황산이 가장 효율적이었으며, 각 해조류의 성장속도와 수확량 및 에탄올 생산수율 등을 고려할 때 갈조류가 바이오에탄올 생산을 위한 제3세대 바이오매스 자원으로 가장 유리함을 알 수 있었다. 특히 갈조류인 다시마는 사탕수수나 옥수수에 비해 바이오에탄올 생산성이 높아 이들을 대체할 수 있는 바이오매스 자원으로 활용 가능함을 알 수 있었다. 다만 높은 온도와 긴 가수분해시간으로 인한 에너지 비용 증가, 가수분해시 다시마 주입량이 증가할수록 단위무게당 바이오에탄올의 생산수율이 감소하는 등의 문제점은 여전히 해결되어야 할 과제로 남아있다.

본 연구에서는 바이오에탄올 생산을 위한 다시마의 전처리 방법으로 마이크로파 조사 산-가수분해를 적용하고 마이크로파 조사가 다시마의 가수분해 및 에탄올 생산수율에 미치는 영향을 재래식 가열법과 비교 평가하였다. 또한 마이크로파와 재래식 가열법의 에너지 효율을 비교 평가하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험재료 및 장치

다시마(*Laminaria japonica*)는 지역 시장에서 건조물 형태로 구입한 다음 커터밀을 이용하여 0.15mm 이하로 분쇄하였다. 다시마 분말은 80℃에서 24시간 건조시킨 후 PE백에

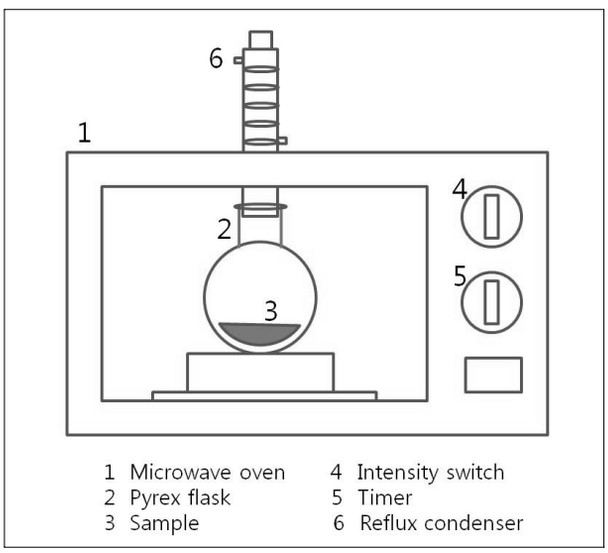

Fig. 1 Schematic diagram of microwave pretreatment apparatus

밀봉하여 보관하였다.

에탄올 발효를 위한 효모로는 *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 24858)를 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였다. 분양받은 YM 배지상의 *S. cerevisiae* 균주는 냉동 보관하였다.

마이크로파 가열장치로는 정격소비전력 900W, 발진주파수 2,450MHz,정격고주파출력 500W인 가정용 전자레인지(LG, MR-205)를 사용하였다. 마이크로파 가열장치와 비교하기 위한 재래식 가열장치로 맨틀히터(Young JI, IMTC-P50, 최대소비전력 250W)와 고압멸균기(SeJong Plus, SJP-60AC, 최대소비전력 3kW)를 사용하였다. 마이크로파 조사에 의한 용매의 증발 손실을 방지하기 위하여 Fig. 1과 같이 전자레인지 상부에 홈을 뚫어 환류 냉각기를 설치한 후 반응기인 플라스크와 연결하였다.

2.2 산 가수분해

다시마의 가수분해는 300mL 플라스크에 0.5N H_2SO_4 용액 50mL와 다시마 분말 0.5～5.0g을 넣어 잘 혼합한 다음 플라스크를 환류 냉각기에 연결하고 전자레인지 및 맨틀히터를 이용하여 2～30분 가열하는 방법으로 실시하였다. 고압멸균기를 가열장치로 사용하는 경우에는 300mL 플라스크대신 250mL 가압분해병(Duran group, Germany)을 사용하였으며 100℃에서 10～60분 가열하였다. 가수분해 후 유리된 당류를 포함하는 액상과 잔류 고형물질은 GF-C 여과지를 이용하여 분리하였다. 여지상의 고형물질은 온수로 세척한 후 80℃에서 완전 건조하고 무게를 칭량하여 가수분해 조건에 의한 유기물의 분해율을 산출하는데 이용하였다. 여액은 일부를 분취하여 총환원당 농도를 분석하였으며, 나머지는 NaOH 용액을 가하여 pH를 4.3으로 조절한 다음 에탄올 발효를 위한 시료로 사용하였다.

2.3 에탄올 발효

에탄올 발효는 50mL 삼각플라스크에 30mL의 가수분해액(pH 4.3)을 넣고 배양된 *S. cerevisiae* 균주 3mL를 접종한 다음 발효온도 35℃의 조건의 인큐베이터에서 96시간 실시하였다. 접종원인 *S. cerevisiae* 균주는 영양염으로 glucose 100g/L, yeast extract 2.5g/L, peptone 2.5g/L, K_2HPO_4 1g/L, $MgSO_4{\cdot}7H_2O$ 2.5g/L를 포함하는 배양액 100mL에 YM 배지상의 *S. cerevisiae* 균주 소량을 접종하고 35℃에서 48시간동안 배양하였다. 삼각플라스크는 주사바늘이 꽂힌 테프론 뚜껑으로 밀봉하여 공기의 유입을 최대한 제한함과 동시에 발효시 발생하는 이산화탄소를 배출하였다. 발효가 완료된 후 발효액을 분취하여 4,000rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액 중의 에탄올 농도를 분석하였다.

2.4 분석방법

가수분해 조건별 해조류의 용해율은 가수분해 후 잔존하는 고형물질의 무게를 바탕으로 Wight loss(%)로 산출하였다.

총 환원당 농도는 DNS 법[22]을 이용하여 분석하였다. DNS 시약은 2N NaOH 용액 100mL에 5g의 3,5-dinitrosalicylic acid와 150g의 Rochelle salt를 순차적으로 용해시킨 다음 총부피가 500mL가 되도록 증류수를 가하는 방법으로 제조하였다. 환원당 분석을 위한 표준시약으로는 글루코오스 40～1,000mg/L를 사용하였다. 환원당 농도 분석용액은 적정한 농도로 희석된 전처리 시료 1mL에 DNS시약 1mL를 첨가하고 끓는 물에 넣어 15분간 반응시킨 다음 20℃로 15분간 냉각시키고 3mL의 증류수를 가하여 제조하였다. 환원당 농도의 정량은 UV-분광계(UV-2401PC, Shimadzu)를 이용하여

DNS시약으로 발색시킨 분석용액의 흡광도를 파장 546nm에서 측정하고 이를 표준용액의 흡광도와 비교하는 방법으로 분석하였다.

효모발효 후 생산된 에탄올 농도는 Gas Chromatography (GC Model 250A, Shimadzu)를 이용하여 정량 분석하였다. GC는 flame ion detector (FID)와 DB-WAX column (30m ×0.25mm ID, Agilent Technologies, USA)으로 구성된다. 주입기, 검출기와 컬럼오븐의 온도는 각각 200, 230와 80°C로 설정하였으며, 헬륨을 운반기체로 사용하였다. 에탄올 정량분석을 위한 표준시료는 증류수에 에탄올 0.01~10% v/v를 함유한 시료를 사용하였다.

마이크로파 조사장치 및 재래식 가열장치의 소비전력은 소비전력 측정기(AD power, HPM-100A)를 사용하여 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 마이크로파 가열 산 가수분해 특성

마이크로파 조사시간에 따른 다시마의 가수분해 특성을 알아보기 위하여 0.5N 황산 50mL에 다시마 2.5g을 넣고 마이크로파를 2~12분 조사한 후 각 조사시간별 다시마의 용해율과 환원당 생성량을 측정하였다(Fig. 2). 다시마의 용해율을 나타내는 무게감소는 마이크로파 조사시간 6분까지 약 70%로 급격하게 상승하였으며, 그 이후 조사시간 12분까지 약 2% 정도 상승하는데 그쳐 다시마의 용해가 대부분 마이크로파 조사 6분 이내에 이루어짐을 알 수 있다. 반면 환원당 생성량은 마이크로파 조사시간 4분부터 8분까지 크게 상승하여 다시마의 용해시간에 비하여 2분 정도 지연되는 특성을 나타내었다. 이성목과 이재화는 갈조류의 분해시 유리되는 alginate 및 laminaran 등의 고분자 물질이 물리화학적 가수분해를 통해 단당류로 전환될 수 있음을 시사하였다.[23] 이로 미루어 다시마의 용해시간과 환원당의 생성시간의 차이는 다시마의 용해과정에서 유리된 alginate 및 laminaran 등의 고분자 물질이 추가적인 가수분해 반응을 통해 단당류로 전환되기 때문으로 추측된다. 다시마로부터 에탄올을 생산하기 위해서는 다시마 내의 다당류 및 고분자 물질을 에탄올 발효 효모인 *S. cerevisiae*가 대사할 수 있는 단당류 및 저분자 물질로 전환시켜야 한다. 따라서 다시마로부터 효율적으로 에탄올을 생산하기 위해서는 환원당 생성량이 급격히 증가한 후 안정화되는 8분 이상의 마이크로파 조사가 필요할 것으로 판단된다.

Fig. 3은 마이크로파 가열방식과 재래식 가열방식을 적용할 때 가열시간별 환원당 생성량을 비교하여 보여주고 있다. 재래식 가열장치로는 직접 가열방식인 맨틀히터와 간접 가열

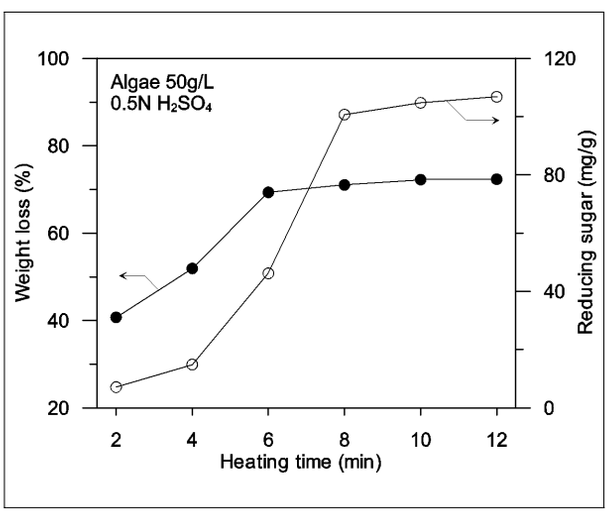

Fig. 2 Weight loss and reducing sugar yield of *Laminaria japonica* after acid-hydrolysis as a function of microwave irradiation time

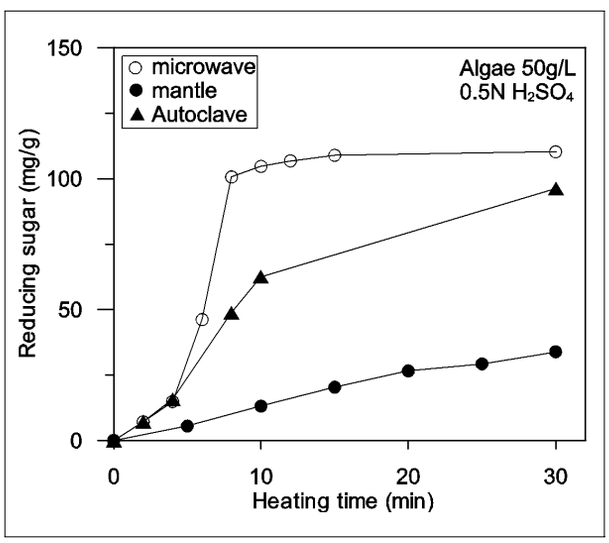

Fig. 3 Reducing sugar yield from *Laminaria japonica* by acid-hydrolysis under microwave and conventional heating

방식인 고압멸균기를 사용하였다. 맨틀히터의 경우 마이크로파 가열과 동일한 반응기(Fig. 1)를 사용하였으나 고압멸균기의 경우 플라스크 대신 가압분해병을 사용하였다. 또한 Fig. 3의 가열시간은 마이크로파와 맨틀히터의 경우 승온시간을 포함한 총 가열시간을, 가압증기 가열방식인 고압멸균기의 경우 100℃까지 승온(약 16분) 이후 가열시간을 표시하였다. 마이크로파 가열과 동일하게 증발된 용액이 환류냉각기를 통해 용액으로 재순환되는 맨틀히터 가열에서의 환원당 생성량은 가열시간 10분에 13mg/g, 20분에 27mg/g, 30분에 34mg/g으로 가열시간에 따라 비례적으로 증가하였으나 마이크로파 가열의 환원당 생성량(100～110mg/g)에 비해 훨씬 낮았다. 이와 같은 환원당 생성량의 차이는 환류냉각기가 부착된 플라스크를 반응기로 사용하여 가열에 의해 상승할 수 있는 용액의 온도가 끓는점으로 제한되었다는 점을 고려할 때 마이크로파 조사장치인 전자레인지(900W)와 맨틀히터(250W)의 출력차이로 인한 가열속도 및 온도 효과만으로 설명하기 어렵다. 마이크로파 조사에 의한 유전체 가열방식은 전도와 대류를 바탕으로 하는 재래식 가열방식과 달리 가열효과 외에 피가열체의 불균일성에 따른 극성차이로 발생하는 열점(hot spot)현상으로 인해 분자구조의 파괴를 촉진하는 폭발효과를 일으킨다고 알려져 있다.[16] 이로 미루어 맨틀히터에 비해 마이크로파 가열에서 많은 환원당이 생성된 것은 가열효과 외에 폭발효과 등 마이크로파 효과에 의해 다당류의 분해가 촉진되었기 때문으로 판단된다. 한편 고압멸균기를 이용한 가열에서의 환원당 생성량은 가열시간 10분(총 가열시간 26분)에 62mg/g, 가열시간 30분(총 46분)에 96mg/g으로 맨틀히터 가열조건에 비해 월등히 높았다. 특히 가열시간 30분의 환원당 생성량은 마이크로파 가열시간 8분에서의 환원당 생성량(100mg/g)과 거의 동등한 수준일 정도로 높아 고압멸균기 가열 역시 환원당의 생성속도는 느리지만 환원당 생성량 측면에서는 효율적임을 알 수 있다. 고압멸균기의 가수분해효율이 맨틀히터에 비해 월등히 높은 이유는 아직 불분명하지만 고압멸균기의 경우 맨틀히터와 달리 밀폐된 가압분해병을 사용하였다는 점을 고려할 때 증기압력에 의한 가압효과가 가수분해 촉매인 황산의 침투를 촉진시켰기 때문으로 추측된다. 이로 미루어 마이크로파 가열 역시 밀폐형의 가압 반응조를 사용할 경우 가압효과에 의해 가수분해효율을 더 높일 수 있을 것으로 판단된다.

3.2 소비전력의 상대적 비교

재래식 가열과 마이크로파 가열의 소비전력을 비교하기 위해 500mL의 플라스크에 0.5N 황산용액 50～400mL를 주입하는 조건에서 전자레인지와 맨틀히터 및 고압멸균기로 가열, 100℃까지 승온되는 시간과 소비전력을 측정하였다. 고압멸균기의 경우 100℃까지 승온되는 시간이 16～17분으로 피가열 용액의 용량에 관계없이 거의 일정하였다. 이는 소비전력의 대부분이 고압증기 생성 즉, 증기생성수의 가열에 소모되기 때문으로 판단되며, 승온시간 역시 증기생성수의 주입량에 의해 지배되는 경향을 보여 직접가열방식인 마이크로파 가열과 소비전력을 상대적으로 비교하는데 어려움이 있어 이후 논의에서는 이를 제외하였다. Fig. 4는 마이크로파 가열과 맨틀히터 가열의 시료용량에 따른 100℃까지의 승온시간을 보여주고 있다. 시료용액 50, 100, 200, 400ml를 100℃까지 가열하는데 걸리는 소요시간은 마이크로파 조사의 경우 각각 0.75, 1.3, 2.5, 4.6분, 맨틀히터의 경우 각각 8.4, 10.6, 14.3, 21.6분으로 피가열 시료용액의 부피에 정비례하여 증가하였다. 또한 Fig. 4에 표시한 용액부피와 가열시간 사이의 직선회귀식의 기울기는 마이크로파 가열이 0.011, 맨틀히터 가열이 0.037로 계산되어 두 가열장치의 출력차이와 대략적으로 일치하였다. Fig. 5는 시료용액을 100℃로 가열하는데 소모된 에너지를 각 용액부피별로 소비전력측정기를 이용하여 측정한 결과를 보여주고 있다. 시료용액 50, 100,

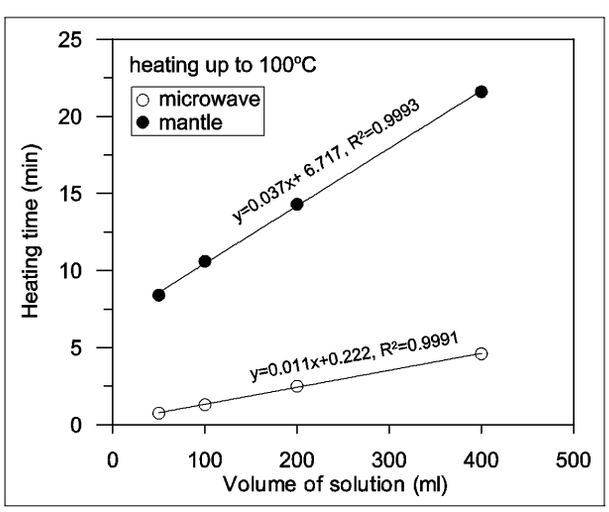

Fig. 4 Time consumption for heating solution up to 100℃ by microwave and mantle heating

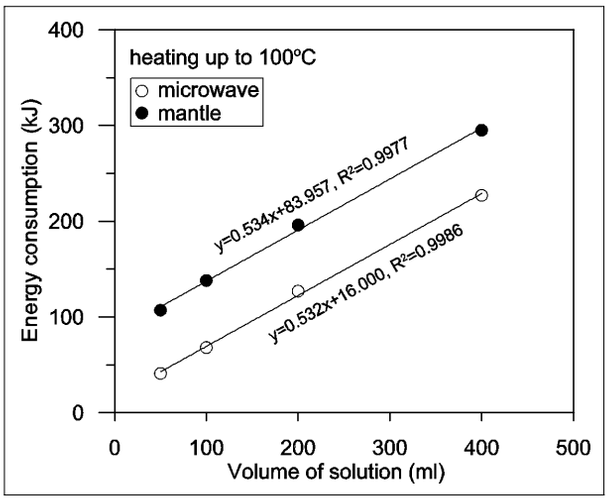

Fig. 5 Energy consumption for heating solution up to 100℃ by microwave and mantle heating

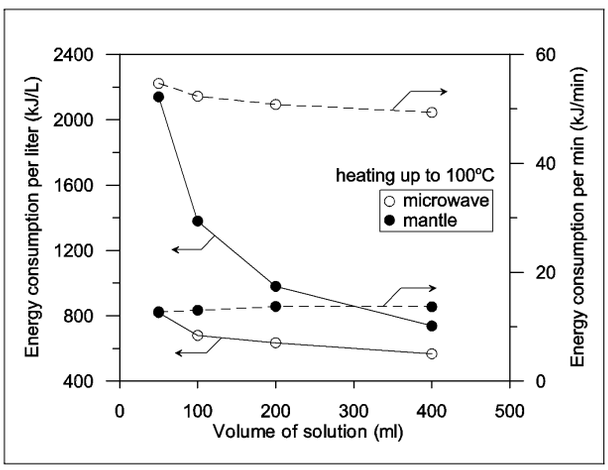

Fig. 6 Recalculated energy consumption per unit volume (L) and heating time (min) using data from Figs. 4 and 5

200, 400ml를 100℃까지 가열하는데 소모된 에너지는 마이크로파 가열시 각각 41, 68, 127, 227kJ, 맨틀히터 가열시 각각 107, 138, 196, 295kJ로 측정되어, 용액의 부피(x)가 증가함에 따라 마이크로파의 경우 y=0.532x+16.0, 맨틀히터의 경우 y=0.534x+84.0의 직선식에 따라 에너지 소모량(y)이 증가되었다. 마이크로파와 맨틀히터의 피가열체로 같은 용액을 사용하였으므로 비열이 같다는 점을 고려할 때 위 직선식의 기울기와 y축 절편은 각각 용액의 비열과 가열장치의 에너지 손실량을 반영하고 있다고 볼 수 있다. 따라서 위 두 직선식이 y축 절편 값만 다를 뿐 거의 같은 기울기를 갖는다는 것은 가열방식에 따라 에너지 손실율은 다르지만 용액의 가온을 위해 필요한 에너지는 가열방식과 관계없이 거의 일정함을 의미한다. Fig. 6은 Fig. 4와 Fig. 5의 각 용액부피별 100℃ 가온 에너지 소모량을 시료용액 1 리터당 및 1 분당 에너지 소모량으로 환산하여 비교한 것으로, 마이크로파 가열방식에 비해 맨틀히터 가열방식의 에너지 소모량이 크며 용액의 부피가 작을수록 그 차이가 커짐을 극단적으로 보여주고 있다. 이는 마이크로파 가열에 비해 맨틀히터 가열의 열손실이 커 용액의 부피가 작을수록 즉, 가수분해공정을 반복할수록 총 에너지 소모량에서 열손실이 차지하는 비율이 높아지기 때문이다. 한편 전자레인지와 맨틀히터의 단위시간당 소비전력은 각각 51.78±1.97kJ/min과 13.28±0.41kJ/min으로 용액의 부피와 관계없이 대체로 일정한 범위를 보였다. 본 연구에서 측정된 전자레인지의 평균 소비전력은 900W 가정용 전자레인지의 이론적 에너지 공급량 54kJ/min과 거의 일치하였다. 실험에 사용한 전자레인지의 정격고주파출력은 500W이므로 마이크로파 조사 에너지는 이론적으로 총 소비전력의 약 56%인 30kJ/min 정도이다.

3.3 다시마 주입량별 가수분해 효율

가수분해 용액 대비 바이오매스의 주입량비(solid-to-liquid ratio)는 가수분해 효율은 물론 에탄올 생산수율과 회수-정제 비용 등에 중요한 요소로 작용한다. 재래식 가열법을 바탕으로 하는 산 및 알칼리 가수분해에서는 보편적으로 바이오매스 주입량이 증가할수록 환원당 전환수율 및 에탄올 생산수율이 감소하는 경향이 있다고 보고되어 있다.[21,24] 재래식 가열방식 대신 마이크로파 가열방식을 적용할 경우 산 가수분해효율에 미치는 바이오매스 주입량비의 영향을 검토하기 위해서 다시마 주입량을 용매 대비 1~10%로 변화시키는 조건에서 마이크로파 가열과 재래식 가열방식을 적용하여 가수분해를 실시하고 각 조건별 가수분해효율과 에탄올 생산효율을 비교하여 보았다. 다만, 맨틀히터의 경우 마이크로파와 조건이 동일하지만 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 가열시간 30분에서도 환원당 생성수율이 3% 이하일 정도로 너무 낮아 마이크로파와 가수분해효율을 비교하는 것은 큰 의미가 없었다. 이에 따라 다시마 주입량별 가수분해 효율은 마이크로파와 고압멸균기 만을 비교하였다. 가수분해는 0.5N 황산을 촉매

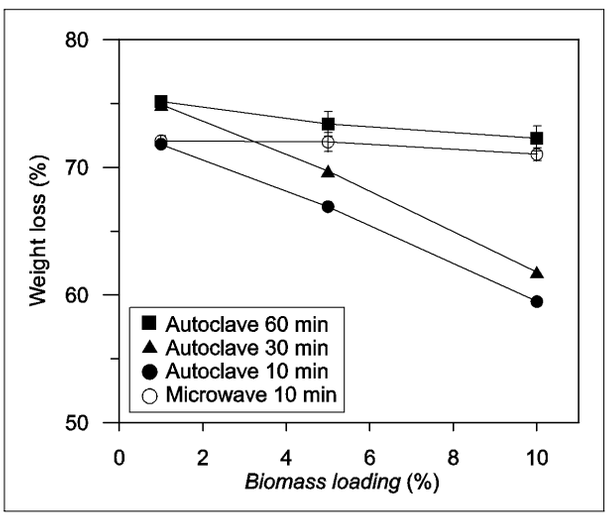

Fig. 7 Weight loss of *Laminaria japonica* after acid-hydrolysis heated by microwave irradiation and autoclave

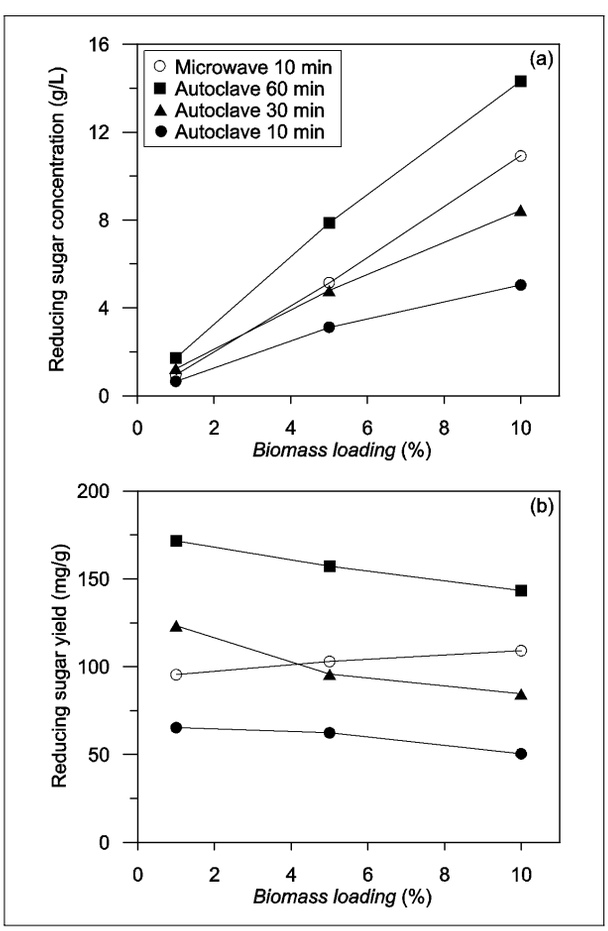

Fig. 8 Reducing sugar productions from acid-hydrolysis of *Laminaria japonica* under microwave irradiation and autoclave

로 마이크로파를 10분간 조사하는 조건과 100℃ 고압멸균기에서 10～60분간 가열하는 조건에서, 에탄올 발효는 가수분해 여액에 배양된 *S. cerevisiae* 균주 일정량을 주입하고 35℃에서 96시간 발효시키는 조건에서 각각 실시하였다.

Fig. 7은 산 가수분해 후 다시마의 무게감소율을 나타낸 것으로, 마이크로파 가열의 경우 다시마의 주입량에 관계없이 무게감소율이 71.7±0.5%로 거의 일정하게 유지되고 있음을 보여주고 있다. 이는 마이크로파를 10분간 조사하는 조건에서 0.5N 황산용액에 주입된 다시마의 약 72%가 용해되었음을 의미한다. 한편, 고압멸균기를 이용하여 가열한 경우에는 다시마 주입량이 증가할수록 무게감소율 즉, 다시마의 용해율이 감소하는 경향을 보였다. 특히 가열시간 30분 이하에서는 그 경향이 뚜렷하여 다시마 주입량을 1%에서 10%로 증가시킴에 따라 용해율이 72～75%에서 60～62%로 12% 이상 감소하였으며, 가열시간을 60분으로 연장할 경우 용해율 차이가 3% 이내로 줄어들어 다시마가 비교적 안정적으로 용해되었음을 알 수 있다.

가수분해액의 환원당 농도는 Fig. 8(a)에 나타낸 바와 같이 가열방식에 관계없이 모두 다시마 주입량이 증가할수록 증가하였다. 즉, 마이크로파 가열의 경우 다시마 주입량을 1, 5, 10%로 증가시킴에 따라 954mg/L, 5,147mg/L, 10,911mg/L로 증가하였다. 이들 환원당의 농도를 주입된 다시마의 단위무게당으로 환산할 경우 95mg/g에서 103mg/g, 109mg/g으로 다시마의 주입량이 증가할수록 환원당 전환수율이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8(b)). 이에 반해 고압멸균기를 이용하여 가열한 경우에는 다시마 주입량이 증가할수록 환원당 농도는 증가하였으나 환원당 전환수율은 오히려 감소하는 경향을 보여 마이크로파 가열과 대조적이었다. 그러나 가열방식에 관계없이 환원당 전환수율은 6.5～17.2%로 60～75%에 달하는 다시마의 용해율에 비해 훨씬 낮았다. 이는 다시마에서 용해된 성분들이 대부분 가용성 다당류 형태로 유리되며, 이들 중 일부만이 환원당으로 전환되었음을 나타낸다.

발효액 중의 에탄올 농도 역시 환원당 농도와 마찬가지로 가열방식에 관계없이 다시마 주입량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였다(Fig. 9(a)). Fig. 8의 환원당 농도와 Fig. 9의 에탄올 농도를 바탕으로 발효에 의한 환원당의 에탄올 전환율을 계산하면 마이크로파의 경우 0.87～1.02, 고압멸균기의 경우 0.56～0.91로 가열방식에 관계없이 이론적 전환율

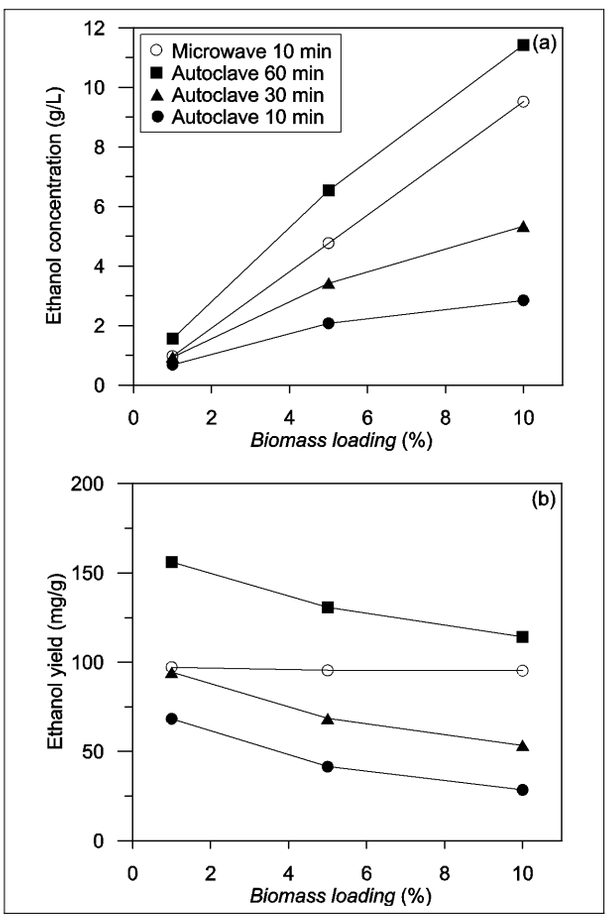

Fig. 9 Ethanol productions from fermentation of hydrolysates of *Laminaria japonica* treated with microwave irradiation and autoclave

0.51에 비해 높았다. 나춘기와 송명기는 *S. cerevisiae* 효모를 이용한 다시마 산 가수분해물의 에탄올 발효에서 에탄올 생산량이 환원당의 이론적 에탄올 전환율에 비해 3배 이상 높았고 그 배율이 다시마 주입량이 증가할수록 증가하는 점으로 미루어 환원당보다는 에탄올 생산 기질로 이용 가능한 수준으로 가수분해된 올리고당류나 만니톨 등과 같은 비환원당류에 의해 에탄올 생산량이 지배된다고 주장하였다.[21] 또한 이성목과 이재화는 *S. cerevisiae* 효모를 이용한 다시마의 산-가수분해물의 발효과정에서 오히려 환원당의 농도가 증가하였다고 보고하였다.[23] 환원당에 비해 높은 에탄올 생산성은 해양조류의 에탄올 발효에 관한 Wang 등의 연구에서도 제시된 바 있다.[24] 갈조류인 다시마는 건조무게의 약 30~67%의 탄수화물을 함유하고 있으며, alginate, laminaran 및 mannitol이 탄수화물의 주요 구성 성분을 이룬다. Alginate는 다시마의 세포벽을 이루는 구조성 다당류로 β-D-mannuronate와 α-L-guluronate가 homopolymer 형태나 heteropolymer 형태로 존재하는 등[25,26] 매우 복잡한 구조로 이루어져 있어 에탄올 생산을 위한 기질로 직접 이용되기는 어렵다. 한편 이성목과 이재화는 *S. cerevisiae* 효모가 자체적으로 alginate를 가수분해할 수 있는 활성을 가진다고 보고한 바 있다.[23] 다시마의 또 다른 고분자인 laminaran은 주로 β-1, 3 결합으로 구성된 glucan으로 되어 있으며, 미량의 D-mannitol을 함유하고 있다. 따라서 직접 에탄올 전환이 가능한 mannitol과 함께 laminaran 역시 에탄올 생산을 위한 기질로 이용 가능하다고 알려져 있다.[27] 이로 미루어 가수분해에 의해 고분자 다당류로부터 전환된 환원당을 기질로 활용하여 생산할 수 있는 에탄올보다 훨씬 많은 에탄올이 생산되었다는 사실은 환원당뿐만 아니라 가수분해액에 용해되어 있는 비환원당이나 oligomer 성분 역시 에탄올 생산을 위한 기질로 이용되었음을 의미한다. 또한 고압멸균기에 비해 마이크로파 가열에서 환원당의 에탄올 전환율이 더 높다는 것은 마이크로파 조사에 의해 발효 가능한 형태의 비환원당 성분이 더 많이 생성되었음을 시사한다.

한편, 다시마 건조물 단위무게당 에탄올 생산량은 다시마 주입량이 증가할수록 모두 감소하는 경향을 보였다(Fig. 9(b)). 다만, 마이크로파의 경우 다시마 주입량을 1%에서 10%로 증가시킴에 따라 에탄올 생산량은 97.2mg/g에서 95.2mg/g으로 약 2% 정도 감소하는데 그쳐 그 영향이 크지 않았다. 이에 반해 고압멸균기의 경우 다시마 주입량을 1%에서 10%로 증가시킴에 따라 가열시간 10분에서는 68.3mg/g에서 28.5mg/g으로 58%, 30분에서는 94.3mg/g에서 53.4mg/g으로 43%, 60분에서는 156mg/g에서 114mg/g으로 27% 감소할 정도로 다시마 단위무게당 에탄올 생산량이 크게 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과로부터 마이크로파 가열이 재래식 가열에 비해 짧은 시간에 대량의 바이오매스를 처리하는데 보다 효율적임을 알 수 있다.

4. 결 론

바이오에탄올 생산을 위한 다시마의 전처리 방법으로 마이

크로파 조사 산-가수분해의 적용성과 효율성을 재래식 가열 방법과 비교 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) 마이크로파 가열방식은 재래식 가열방식에 비해 가수분해시간이 짧고, 환원당 생성수율이 높아 다시마의 가수분해공정으로 보다 유리한 특성을 나타내었다.
2) 마이크로파 가열방식의 열손실량은 16kJ로 맨틀히터의 열손실량 84kJ의 약 20%에 불과할 정도로 적어 마이크로파 가열방식이 재래식 가열방식에 비해 우수한 에너지 효율을 보였다.
3) 마이크로파 가열방식은 다시마 주입량에 관계없이 일정한 에탄올 생산수율을 얻을 수 있어 다시마 주입량이 증가할수록 에탄올 생산수율이 큰 폭으로 감소하는 재래식 가열방식에 비해 바이오매스를 고농도로 처리하는데 보다 효율적이었다.

이상의 결과로 미루어 마이크로파 가열방식이 재래식 가열방식에 비해 공정시간, 가수분해와 에너지 효율, 대량의 바이오매스 전처리 및 에탄올 생산 측면에서 보다 유리함을 알 수 있었다.

References

[1] Balata, M., Balata, H., Öz, C. 2008, "Progress in bioethanol processing", Prog. Energy and Combustion Sci., Vol. 34, pp. 551-573.

[2] Nigam, P., Singh, A. 2011, "Production of liquid biofuels from renewable resources", Prog. Energy Combust. Sci., Vol. 37, pp. 52-58.

[3] Sims, R. E. H., Mabee, W., Saddler, J. N., Taylor, M. 2011, "An overview of second generation biofuel technologies", Bioresource Technololy, Vol. 101, pp. 1570-1580.

[4] Delgenes, J. P., Moletta, R., Navarro, J. M. 1990, "Acid-hydrolysis of wheat straw and process considerations for ethanol fermentation by *Pichia Stipitis* Y7124", Process Biochemistry, Vol. 25, pp. 132-135.

[5] Ahring, B. K., Jensen, K., Nielsen, P., Bjerre, A. B., Schmidt, A. S., 1996, "Pretreatment of wheat straw and conversion of xylose and xylan to ethanol by thermophilic anaerobic bacteria", Bioresource Technology, Vol. 58, pp. 107-113.

[6] Nigam, J. N. 2001, "Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*", Journal of Biotechnology, Vol. 87, pp. 17-27.

[7] Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., Wu, Y. V. 2005, "Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol", Process Biochemistry, Vol. 40, pp. 3693-3700.

[8] Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. 2008, "Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances", Plant J., Vol. 54, pp. 621-639.

[9] Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., Puruhito, E., Chen, Y. 2010, "Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes", Bioresource Technology, Vol. 101, pp. 5297-5304.

[10] Singh, A., Nigam, P. S., Murphy, J. D. 2011, "Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels", Bioresource Technology, Vol. 102, pp. 10-16.

[11] Lloyd, T. A., Wyman, C. E. 2005, "Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids", Bioresource Technology, Vol. 96, pp. 1967-1977.

[12] Gomez, L. D., Steele-King, C., McQueen-Mason, S. J. 2008, "Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls", New Phytol., Vol.178, pp. 473-475.

[13] Chen, W. H., Tu, Y. J., Sheen, H. K. 2010, "Impact of dilute acid pretreatment on the structure of bagasse for producing bioethanol", Int. J. Energy Res., Vol. 34, pp. 265-274.

[14] Chen, Y., Dong, B., Qin, W., Xiao, D. 2010, "Xylose and cellulose fractionation from corncob with three different strategies and separate fermentation of them to bioethanol", Bioresource Technology, Vol. 101, pp. 6994-6999.

[15] De la Hoz, A., Diaz-Ortiz, A., Moreno, A. 2005, "Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects", Chem. Soc. Rev., Vol. 34, pp.164-168.

[16] Hu, Z. H., Wen, Z. Y. 2008, "Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment", Biochem. Eng. J., Vol. 38, pp. 369-378.

[17] Ooshima, H., Aso, K., Harano, Y., Yamamoto, T. 1984, "Microwave treatment of cellulosic materials for their

enzymatic hydrolysis", Biotechnol. Lett., Vol. 6, pp. 289-294.
[18] Li, J., Yang, Y., Chen, H., Jiang, F., Ling, J., Liu, M. 2009, "Comparison of saccharification process by acid and microwave-assisted acid pretreated swine manure", Bioproc. Biosyst. Eng., Vol. 32, pp. 649-654.
[19] Lu, X., Xi, B., Zhang, Y., Angelidaki, I. 2011, "Microwave pretreatment of rape straw for bioethanol production: focus on energy efficiency", Bioresource Technology, Vol. 102, pp. 7937-7940.
[20] 나춘기, 송명기, 손창인, 2011, "산 가수분해와 발효에 의한 해조류로부터 에탄올 생산", 신재생에너지, Vol. 7(3), pp. 6-16.
[21] 나춘기, 송명기, 2012, "다시마의 산 가수분해와 에탄올 발효 특성", Korean Chem. Eng. Res., Vol. 50(1), pp. 141-148.
[22] Miller, G. L. 1959, "Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars", Anal. Chem., Vol. 31, pp. 426-428.
[23] 이성목, 이재화, 2010, "산 농도 및 염 농도가 다시마 에탄올 발효에 미치는 영향", Appl. Chem. Eng., Vol. 21, pp. 154-161.
[24] Wang, X., Liu, X., Wang, G. 2011, "Two-stage hydrolysis of invasive algal feedstock for ethanol fermentation", J. Integrative Plant Biology, Vol. 53(3), pp. 246-252.
[25] Kloareg, B., Quatrano, R. S. 1998, "Structure of the cell walls of marine algae and ecophysical functions of the matrix polysaccharides", Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., Vol. 26, pp. 259-315.
[26] Percival, E. 1979, "The polysaccharides of green, red and brown seaweeds: Their basic structure, biosynthesis and functions", British Phycological Journal, Vol. 14, pp. 103-117.
[27] Horn, S. J., Aasen, I. M., Østgaard, K. 2000, "Production of ethanol from mannitol by Zymobacter palmae", J. Ind. Microbiol. Biotechnol., Vol. 24, pp. 51-57.

송 명 기

2005년 목포대학교 환경공학과 공학사
2007년 목포대학교 환경공학과 공학석사
2011년 목포대학교 환경공학과 공학박사

현재 목포대학교 환경공학과 시간강사
(E-mail : kaynyy@lycos.co.kr)

나 춘 기

1985년 전북대학교 자원공학과 공학사
1987년 전북대학교 자원공학과 공학석사
1991년 일본 쓰쿠바대학 지구과학 이학석사
1994년 일본 쓰쿠바대학 지구과학 이학박사

현재 목포대학교 환경공학과 교수
(E-mail : nack@mokpo.ac.kr)