

초임계 이산화탄소를 이용한 *Nannochloropsis* sp. 미세조류로부터 바이오디젤 생산용 지질의 추출

최경석 · 류재훈* · 박동준 · 오세천** · 곽 현†

(주)한울엔지니어링 기술연구소
435-733 경기도 군포시 고산로148번길 17
*한양대학교 화학공학과
426-791 경기도 안산시 상록구 한양대로 55
**공주대학교 환경공학과
331-717 충청남도 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2014년 6월 24일 접수, 2014년 8월 11일 수정본 접수, 2014년 8월 17일 채택)

Lipid Extraction from *Nannochloropsis* sp. Microalgae for Biodiesel Production Using Supercritical Carbon Dioxide

Kyung-Seok Choi, Jae-Hun Ryu*, Dong-Jun Park, Sea-Cheon Oh** and Hyun Kwak†

Hanwoul Engineering Co., Ltd., R&D Center, 17 Gosan-ro 148beon-gil, Gunpo-si, Gyeonggi 435-733, Korea
*Department of Chemical Engineering, Hanyang University, 55 Hanyangdaehak-ro, Sangrok-gu, Ansan-si, Gyeonggi 426-791, Korea
**Department of Environmental Engineering, Kongju National University,
1223-24 Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungnam 331-717, Korea
(Received 24 June 2014; Received in revised form 11 August 2014; accepted 17 August 2014)

요 약

본 연구에서는 미세조류인 *Nannochloropsis* sp.로부터 바이오디젤 생산용 지질을 얻기 위하여 유기용매 및 초임계 이산화탄소(SC-CO₂)를 이용하여 추출을 수행하였다. SC-CO₂ 추출법으로 얻은 지질의 지방산메틸에스테르 함량은 58.31%로 높았으며, Bligh-Dyer 추출법은 18.0 wt.%의 가장 높은 조지방 수율을 나타내었다. SC-CO₂ 추출법에 극성을 높이기 위해 공용매로서 methanol을 사용한 결과, 조지방 수율 12.5 wt.%, 지방산메틸에스테르 함량 56.32%, 지방산메틸에스테르 수율 7.04 wt.%였으며, SC-CO₂만을 이용하는 추출 방법에 비하여 추출 시간을 2시간에서 30분으로 단축시킬 수 있었다. 따라서 미세조류에서 지질을 추출하는데 기존의 유기용매 추출법과 비교하여 SC-CO₂ 추출법이 친환경적이며, 효율적인 방법임을 확인하였다.

Abstract – In this paper, microalgae lipid extractions were performed using conventional organic solvent and supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) for biodiesel-convertible lipid fractions. The highest levels (58.31%) of fatty acid methyl ester (FAME) content in the lipid extracted by SC-CO₂ was obtained, and 18.0 wt.% crude lipid yield was achieved for Bligh-Dyer method. In the SC-CO₂ extraction, methanol as a co-solvent was applied to increase the polarity of extract. The experimental results indicated that crude lipid yield, FAME content and yield extracted by combination of SC-CO₂ with methanol were 12.5 wt.%, 56.32% and 7.04 wt.%, respectively, and this method could reduce the extraction time from 2 hour to 30 min when compared to SC-CO₂ extraction. Therefore, SC-CO₂ extraction is proven to be an environmentally-friendly and an effective method for lipid extraction from microalgae.

Key words: Microalgae, *Nannochloropsis* sp., Supercritical Extraction, Lipid, Biodiesel

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kh@hanwoul.com

‡이 논문은 한양대학교 배성열 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

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.

1. 서 론

전 세계적으로 사용되는 에너지는 화석연료(석유, 석탄, 천연가스 등)가 대부분을 차지하고 있다. 그러나 최근 원유가격의 급등은 물론 화석연료 고갈 및 온실가스 배출에 따른 기후변화 문제가 심각한 환경문제로 대두되고 있어 이를 대체할만한 신재생에너지 개발은 필수적이다[1,2].

미세조류는 대기나 수중의 이산화탄소(CO₂)와 물을 원료로 광에너지를 이용하여 유기물을 합성하는 단세포의 광합성 미생물이며, 높은 광합성 효율로 인하여 대기 중의 CO₂를 회수하고, 세포 내 생화합적인 합성을 통해 고유의 물질들을 생성한다. 특히 지질 함량이 높아서 육상 농작물의 10배 이상의 뛰어난 지질 생산성을 갖는다[3-6]. 1세대 바이오 연료가 가장 논란을 일으킨 부분은 농경지 사용으로 인한 곡물 가격 상승이었다. 이에 반해 미세조류는 비식용 자원일 뿐만 아니라, 농경지가 아닌 물과 햇빛이 있는 어느 곳에서나 배양이 가능하기 때문에 차세대 바이오 연료의 원료로서 많은 관심을 받고 있다[7-10].

바이오디젤은 기존의 디젤 엔진을 개조하지 않고 직접 사용할 수 있는 대체 연료로서 지질의 일종인 triglyceride와 알코올의 전이에스테르화 반응을 통하여 만들어지는 차세대 바이오연료이다. 바이오디젤로 전환 가능한 지질은 미세조류의 세포벽 안에 포함되어 있으며, 조류 중에 따라 지질의 함량 및 종류가 매우 다양하다. 건조 미세조류로부터 지질을 추출하기 위한 일반적인 방법으로는 속슬렛 추출법과 Bligh & Dyer 추출법이 있다[11-13]. 유기용매는 고체 바이오매스로부터 오일을 추출하는데 유용하지만 대부분 중성지방인 triglyceride에 대한 선택도가 낮으며, chloroform과 같이 독성이 강한 유기용매를 사용함으로써 추출된 지질에 유기용매가 잔류하게 된다. 미세조류로부터 추출하여 응용 가능한 지질에는 바이오연료 뿐만 아니라 항산화물, 천연색소, DHA, EPA 등의 식이 보조제 등과 같은 추출물에도 응용이 가능한데, 이러한 고부가 추출물을 생산하기 위해서는 유기용매가 잔류하지 않는 추출공정이 필요하다[14,15].

초임계유체(supercritical fluid)란 임계압력 및 임계온도 이상의 조건을 갖는 상태에 있는 물질로 정의되며, 일반적인 액체나 기체와는 다른 고유의 특성을 가진다. 일반적으로 어떤 물질을 녹일 수 있는 능력인 용해력은 용매가 갖는 밀도에 비례하게 되는데, 초임계유체는 압력이 충분히 높으면 상당한 용해력을 갖게 된다. 그러나 초임계 상태에서의 분자간의 거리는 액체처럼 가깝지 않아서 점도, 확산계수, 열전도도 및 표면장력이 기체와 비슷한 값을 갖게 된다. 즉 초임계유체는 높은 용해력, 빠른 확산속도, 낮은 표면장력으로 인한 미세공간 안으로의 빠른 침투성 등을 갖게 된다. 또한 상온에서 기체 상태인 물질을 초임계유체로 선정하는 경우에는 잔존 용매의 문제를 해결할 수 있으며, CO₂와 같이 인체에 무해하고 환경오염이 적은 용매를 사용하게 되면 무독성, 환경친화성 공정개발이 가능하여 안전도가 요구되는 의약품, 천연물질, 식품소재, 화장품소재의 고순도 추출에 주로 활용되고 있다[16-19].

위와 같은 초임계 유체의 장점들로 인하여, 초임계 CO₂를 이용한 미세조류로부터의 지질 추출[14-19] 및 공용매[20-22]를 이용하는 연구가 외국의 몇몇 연구자들에 의하여 수행되어졌지만, 바이오디젤 전환 가능한 지질의 추출을 위하여 공용매의 이용 및 추출된 지질의 특성에 대한 연구는 보고되고 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 초임계 CO₂ 추출법을 이용하여 미세조류인 *Nannochloropsis* sp.로부터 바이오디젤로 전환 가능한 지질을 추출하였다. 추출 방법에 따른 효율을 평가하기 위하여 추출된 조지방(crude lipid)의 수율과 지방산메틸에스테르(fatty acid methyl ester, FAME) 수율을 측정하였으며 그 결과를 유기용매추출법인 hexane을 용매로 한 속슬렛(soxhlet) 및 chloroform, methanol, 증류수를 용매로 사용한 Bligh-Dyer 추출법에 의해 추출된 지질과 비교하였다. 초임계 CO₂ 추출 공정의 극성을 변화시키고 추출 효율을 증가시키기 위하여 methanol을 공용매로 사용하였으며 바이오디젤 생산용 지질 추출 방법으로서의 가능성을 평가하였다.

2. 실험

2-1. 시 료

본 실험에 사용된 미세조류는 광생물반응기(Photobioreactor)에서 배양된 배양액을 원심분리한 후 동결건조 하여 얻어진 파우더 형태의 *Nannochloropsis* sp.(PROVIRON INDUSTRIES NV, Provifeed™ Nannochloropsis FD, Belgium)이며, 동결건조 시료는 밀봉하여 4 °C의 냉장실에 보관하면서 실험에 사용하였다. PROVIRON사에서 구입한 *Nannochloropsis* sp.의 성분을 Table 1에 나타내었다.

2-2. Bligh-Dyer 추출법

Nannochloropsis 건조 파우더 5 g을 정량하여 flask에 담은 후 chloroform 50 mL, methanol 50 mL, 증류수 45 mL(1:1:0.9, v/v/v)를 넣고 150 rpm으로 2시간 동안 교반하였다. 교반된 시료를 glass microfiber filter(Whatman™, 0.45 μm, UK)를 통해 고상과 액상을 분리하고, 추출된 액상 생성물과 물을 분리하기 위해 분액깔때기에 넣은 후 10분간 분리시켰다. 생성된 분리층에서 지방을 포함하고 있는 chloroform 층을 취하여 회전식 감압 증발기(EYELA, N-1110V, Japan)를 이용하여 용매를 증발시킨 후 수율을 측정하였으며, 지질 성분의 FAME 함량을 분석하였다.

2-3. 속슬렛 추출법

Nannochloropsis 건조 파우더 5 g을 정량하여 thimble filter(ADVANTEC, ID25 mm OD28 mm L100 mm, Japan)에 담은 후 속슬렛 추출기 안에 설치하였으며, n-hexane 300 mL로 24시간(용매 회전수 : 428 회) 동안 추출하였다. 추출이 종료된 후 용매를 증발시켰으며, 추출된 지질을 정량하였다.

2-4. 초임계 CO₂ 추출법

초임계 CO₂ 추출실험에 사용된 반응장치의 개략도를 Fig. 1에 나타내었다. 반응기는 sus316 재질의 내부용량 20 mL(1.5 cm I.D., 12 cm Height)의 관형반응기를 사용하였으며, *Nannochloropsis* 건조 시료 2 g 정량하여 반응기 내부에 넣고 CO₂ 추출 시 시료가 반응기 외부로 빠져나가는 것을 방지할 수 있도록 반응기 전후의 양쪽 끝을 유리섬

Table 1. Composition of *Nannochloropsis* sp.

Component	Content (wt.%)	Test method
Total neutral fat	15-25	ISO 1443
Protein	35-45	ISO 937-ISO 1871
Ash	max. 20	ISO 936
Water	max. 10	-

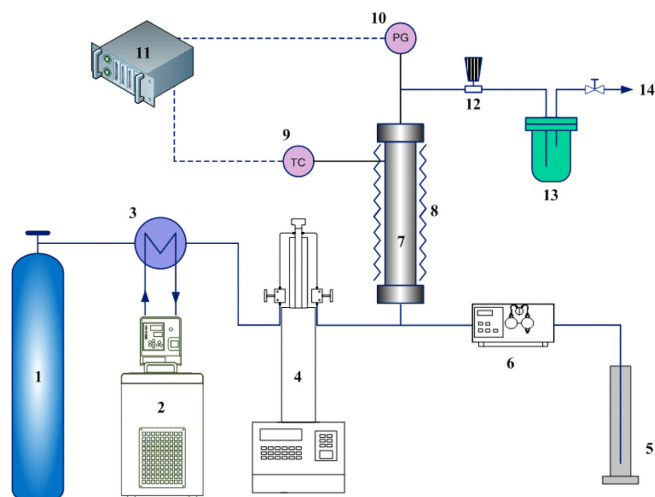


Fig. 1. Schematic diagram of SC-CO₂ extraction with co-solvent of microalgae.

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. CO ₂ Cylinder | 8. Electric band heater |
| 2. Cold liquid circulator | 9. Thermocouple |
| 3. Heat Exchanger | 10. Pressure transmitter |
| 4. Syringe pump | 11. Controller |
| 5. MeOH feed burette | 12. Back pressure regulator |
| 6. HPLC pump | 13. Separator |
| 7. Extractor | 14. CO ₂ vent |

유(glass wool)로 막았다. CO₂를 액화하기 위하여 액화 컨덴서를 -10 °C로 유지하였으며, 원하는 추출 압력까지 가압하는데 syringe pump(ISCO, 260D, U.S.A.)를 사용하였다. 목표 압력에 도달한 후에 back pressure regulator(TECOM, 26-1762-24-161, U.S.A.)로 반응기 내부 압력을 400 bar로 일정하게 유지하였으며, 액화된 CO₂의 유량은 4 mL/min로 주입하였다. 반응기의 온도는 heating band를 감아 PID controller에 연결하여 50 °C로 일정하게 제어하였다. 공용매 효과를 알아보기 위해 CO₂ 주입과 동시에 공용매인 methanol을 반응기 내로 주입하였으며, HPLC pump(Chrom Tech, Inc., P-1010, U.S.A.)를 사용하여 0.4 mL/min의 유량으로 일정하게 주입하였다. 초임계 CO₂에 추출되어 나온 추출물은 separator에서 기체 CO₂와 분리된 액상 생성물로 회전식 감압증발기를 통하여 methanol을 증발시킨 후 수율을 측정하였으며, FAME 함량을 분석하였다.

2-5. 지방산 분석

추출된 지질의 FAME 함량과 지방산 조성을 분석하기 위하여 추출된 지질 400 mg에 BF₃/methanol 4 mL를 넣고 80 °C에서 2시간 동안 전이에스테르화 반응을 수행하였다. 반응액을 상온까지 냉각하고 hexane 5 mL와 증류수 2 mL를 첨가한 다음 원심분리를 사용하여 유기상과 수상으로 분리하였다. 상층액인 유기상을 취하여 회전식 감압 증발기로 용매를 제거한 후 반응물 75 mg에 내부표준물질 3 mL를 첨가하여 flame ionization detector(FID)가 장착된 GC(Agilent, HP-6890, U.S.A.)로 분석하였다. 내부표준물질은 methyl heptadecanoate를 hexane에 녹인 5 mg/mL의 용액을 사용하였고, GC column은 HP-88 capillary column(Agilent, 100 m × 0.25 mm × 0.2 μm, U.S.A.)을 사용하였다. 분석조건은 초기 컬럼 온도 50 °C에서 1 μL의 시료를 주입한 후 170 °C까지 10 °C/min으로, 170 °C에서 210 °C까지는 5 °C/min으로 승온하여 10 분간 유지하였으며, 230 °C까지 5 °C/min으로 승온하여 6 분간 유지하였다. 이때 carrier gas (He)의 유량은 1 mL/min,

injector와 detector의 온도는 260 °C로 유지하였다. FAME의 성분을 확인하기 위해서 GC/MS(Agilent, HP-5973, USA)를 사용하였다. Ion source의 온도는 280 °C, interface의 온도는 260 °C로 유지하였다. 측정된 샘플과 standard 샘플 peak의 retention time을 비교하여 정성분석하였으며, EI mass spectra(70 eV, 50~500 m/z)로 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

중성지질(total neutral fat) 함량이 15~25%인 *Nannochloropsis* sp. 미세조류에 대하여 초임계 CO₂ 추출법(50 °C, 400 bar)과 공용매로 methanol을 사용한 초임계 추출법, 그리고 Bligh-Dyer 및 속슬렛 추출법을 수행하여 결과를 비교하였다. 초임계 CO₂ 추출에서는 극성을 변화시키기 위하여 일반적으로 methanol, ethanol, toluene, methanol-water 혼합액을 사용한다. 본 연구에서는 추출효율을 증가시키기 위하여 극성이 높고 불포화지방산 추출에 효율이 좋은 methanol을 선택하여 사용하였다. 추출 후 얻어진 모든 조지방의 수율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Lipid Yield (wt.\%)} = \frac{\text{Weight of extracted lipid (g)}}{\text{Weight of microalgae (g)}} \times 100 \quad (1)$$

Table 2에 각각의 추출방법에 대해 추출된 조지방 수율의 평균값 및 표준편차를 나타내었다. Bligh-Dyer 추출법이 18.0 wt.%로 상대적으로 높은 수율을 보였으며, 속슬렛 추출법은 24시간의 긴 시간 동안 추출했음에도 불구하고 조지방의 수율이 8.8 wt.%에 불과하였다. 초임계 CO₂ 추출법으로는 6.9 wt.%의 수율을 얻었으나, 공용매로 methanol을 첨가하였을 경우에는 추출시간이 30분으로 줄었음에도 12.5 wt.%의 비교적 높은 수율을 얻었다. 지질은 물에 쉽게 용해되지 않는 유기화합물로서, 대부분의 지질은 분자 구조에 따라 중성지질(acylglycerols, free fatty acids(FFA), hydrocarbons, sterols, ketones, pigments)과 극성지질(인지질, 당지질) 두 가지로 분류할 수 있다. Bligh-Dyer 추출법은 비극성용매인 chloroform과 극성용매인 methanol 및 증류수를 사용하여 미세조류 내의 중성지질과 극성지질을 모두 추출해 내기 때문에 가장 높은 지질 추출 수율을 얻을 수 있었다. 속슬렛 및 SC-CO₂ 추출법에 의하여 추출된 지질의 수율은 상당히 큰 추출시간의 차이에도 불구하고 다소 적은 1.9 wt.%의 차이를 나타내었다. 이는 초임계 상태의 고압 유체에 의한 세포벽 파괴 효과 때문일 것이다. 하지만 비극성용매를 사용한 속슬렛 추출법과 SC-CO₂ 추출법에 의해 추출된 지질의 수율은 상대적으로 적은 것을 알 수 있었다. 초임계 CO₂ 추출과 동시에 공용매로 methanol을 첨가하였을 경우에는 추출된 전체 조지방의 수율이 12.5 wt.%로 상대적으로 높은 수

Table 2. Crude lipid yield at different extraction methods

Extraction method	Yield ^a (wt.%)	Extraction time (hour)
Bligh-Dyer	18.0 (±0.8)	2
Soxhlet	8.8 (±0.4)	24
SC-CO ₂ ^b	6.9 (±0.6)	1
SC-CO ₂ w/co-solvent ^c	12.5 (±0.6)	0.5

^aLipid yields represent the average of three experiment (±standard deviation).

^bSC-CO₂ extraction was performed at 50 °C, 400 bar, and 4.0 mL/minCO₂.

^cSC-CO₂ w/co-solvent was performed at 50 °C, 400 bar, 4.0 mL/minCO₂, and 0.4 mLMeOH.

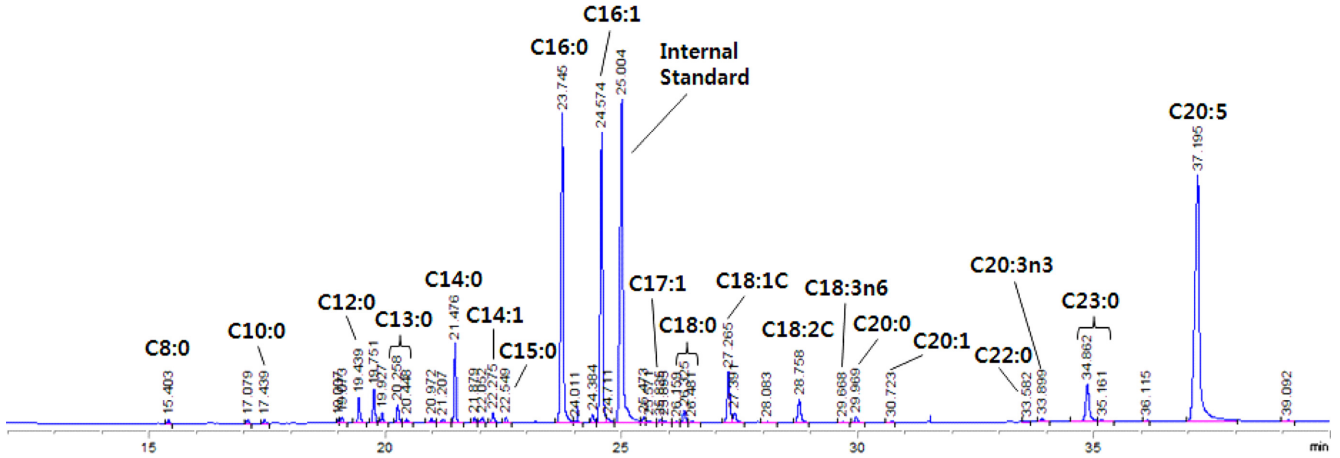


Fig. 2. GC chromatogram of the *Nannochloropsis* sp. lipid products extracted with SC-CO₂ and methanol under 50 °C, 400 bar, 4.0 mL/min-CO₂, and 0.4 mL/minMeOH.

을 얻었는데, 이것은 공용매로 첨가한 methanol이 초임계 CO₂의 polarity를 증가시켜 미세조류의 세포벽 안으로의 빠른 침투 및 극성을 띤 지질에 대한 유체의 친화력 증가 때문이라 사료된다.

추출된 조지방 중에서 바이오디젤의 주성분인 FAME로 전환이 가능한 acylglycerols, FFA, 지방산 등의 함량이 중요하다. 따라서 각각의 추출법으로 얻어진 조지방을 전이에스테르화 반응시킨 후 GC 분석을 통해 FAME 함량을 계산하였다. Fig. 2에는 초임계 CO₂에 methanol을 공용매로 사용하여 추출한 지질의 GC chromatogram을 대표적으로 나타내었다. 각각의 추출 방법에 따른 FAME 성분을 분석하였고, FAME 함량(%) 및 FAME 수율(wt.%)을 계산하여 Table 3에 나타내었다. FAME 함량(content)과 FAME 수율(yield)은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{FAME content (\%)} = \frac{(\Sigma A) - A_{ISTD}}{A_{ISTD}} \times \frac{C_{ISTD} \times V_{ISTD}}{m} \times 100 \quad (2)$$

ΣA is the total peak area from FAME
 A_{ISTD} is the peak area corresponding to methyl heptadecanoate
 C_{ISTD} is the concentration of the methyl heptadecanoate solution [mg/ml]
 V_{ISTD} is the volume of the methyl heptadecanoate solution [ml]
 m is the mass of the sample [mg]

$$\text{FAME yield (wt.\%)} = \frac{\text{Lipid yield (wt.\%)} \times \text{FAME content (\%)}}{100} \quad (3)$$

Table 3을 보면 여러 가지 방법으로 추출한 지질을 분석한 결과 추출 방법이 FAME의 성분에 미치는 영향은 미미한 것을 알 수 있었다. 추출된 지방의 주된 FAME는 palmitic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1), oleic acid (C18:1c), tricosanoic acid (C20:5), eicosapentaenoic acid (C20:5)의 methyl ester이며, 불포화도(degree of unsaturation)는 SC-CO₂ 추출법이 131.17로 가장 작은 값을 보였고, Bligh-Dyer 법이 213.63으로 가장 큰 값으로 계산되었으며, SC-CO₂ w/MeOH 추출법은 불포화도가 200.78이었다. Kinney 등[23]은 바이오디젤의 물리화학적 특성이 원료 내 지방산의 조성 및 그로부터 유래되는 methyl ester의 조성에 따라 달라진다고 보고하였다. 예를 들어 palmitic acid나 stearic acid와 같은 포화지방산이 많이 함유된 원료

물질로부터 생성된 바이오디젤의 경우 저온 유동성이 나빠지며, linoleic acid 또는 linolenic acid와 같은 불포화 지방산으로부터 생성된 바이오디젤은 포화지방산에 비해 산화 안정성이 저하 된다고 보고한 바 있다. 따라서 SC-CO₂ 추출법에 의해 생성된 바이오디젤은 산화 안정성이 좋으나, SC-CO₂ w/MeOH 추출법에 의해 생성된 바이오디젤은 불포화지방산을 많이 함유하고 있어 산화 안정성이 다소 낮을 것으로 생각된다.

FAME 선택도는 일반적인 유기용매 추출법과 비교하여 초임계 추출법이 상대적으로 높은 것으로 나타났으며, 특히 SC-CO₂ 추출은 58.31%로 네 가지 추출 방법 중에 가장 높은 선택도를 나타내었다. 미세조류로부터 추출된 지질을 바이오디젤의 원료로 사용하기 위해 선 중성지방의 함량이 높아야 하는데, 초임계 CO₂는 non-polar한 중성지방에 대한 추출 선택도가 높기 때문에 FAME의 함량이 높은 것으로 사료된다.

FAME 수율은 Bligh-Dyer 추출법이 9.66 wt.%로 가장 높았고, 그 다음이 공용매로 methanol을 사용한 SC-CO₂ 추출법이 7.04 wt.%이었으며, 속슬렛 추출법과 SC-CO₂ 추출법이 각각 4.67, 4.02 wt.%의 수율을 얻었다. Bligh-Dyer 법으로 추출했을 때 가장 많은 FAME 수율을 얻었으나 chloroform과 같은 독성이 강한 유기용매를 사용하게 되고, 추출 시간이 다소 길다는 단점이 있다. 따라서 추출 시간이 30분으로 가장 짧고, FAME 수율이 7.04 wt.%로 비교적 높았던 SC-CO₂ w/MeOH 추출법이 미세조류로부터 바이오디젤 생산용 지질을 추출하기 위한 친환경적이며, 효율적인 추출 방법이라 생각된다. 향후 미세조류에 대한 초임계 CO₂ 추출에 대하여 온도, 압력, 유량 및 공용매 영향 등 공정최적화에 대한 연구를 수행해야 할 것이며 미세조류에서 지질을 추출하는데 있어서 FAME의 수율을 높일 수 있는 최적 조건을 찾아낼 필요가 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 미세조류인 *Nannochloropsis* sp.에서 지질을 추출하기 위하여 유기용매추출법과 초임계 CO₂ 추출법을 이용하여 그 결과를 서로 비교하였다. 추출된 조지방의 수율은 Bligh-Dyer 추출법이 18.0 wt.%로 가장 높은 수율을 얻었으나, chloroform과 같은 독성이 강한 유기용매를 사용하며 추출 시간이 다소 길다는 단점이

Table 3. Comparison of FAME compositions and yields for different extraction methods

	Extraction method			
	Bligh-Dyer	Soxhlet	SC-CO ₂	SC-CO ₂ w/MeOH
Extraction time (hr)	2	24	1	0.5
Crude lipid yield (wt.%)	18.0 (±0.8)	8.8 (±0.8)	6.9 (±0.6)	12.5 (±0.6)
FAME composition (%FAME)				
Butyric acid (C4:0)	0.00	0.21	0.00	0.00
Caprylic acid (C8:0)	0.00	0.21	0.00	0.18
Decanoic acid (C10:0)	0.00	0.33	0.23	0.24
Lauric acid (C12:0)	0.71	1.34	0.63	1.53
Tridecanoic acid (C13:0)	0.31	1.32	0.19	1.49
Myristic acid (C14:0)	4.11	4.93	3.92	4.15
Myristoleic acid (C14:1)	0.36	0.70	0.10	0.74
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.27	0.35	0.31	0.33
Palmitic acid (C16:0)	22.93	29.03	27.29	23.01
Palmitoleic acid (C16:1)	21.08	24.79	26.56	21.05
Heptadenoic acid (C17:1)	0.27	0.20	0.25	0.23
Stearic acid (C18:0)	0.51	1.26	1.83	1.10
Oleic acid (C18:1c)	4.40	5.89	10.60	4.80
Lonoleaidic acid (C18:2t)	0.15	0.00	0.37	0.00
Linoleic acid (C18:2c)	2.20	1.57	8.78	1.98
γ-Linolenic acid (C18:3n6)	0.00	0.23	0.29	0.13
Arachidic acid (C20:0)	0.58	0.46	0.45	0.53
Eicosenoic acid (C20:1)	0.00	0.00	0.22	0.13
Eicosadienoic acid (C20:2)	0.00	0.19	0.11	0.00
Behenic acid (C22:0)	0.16	0.00	0.41	0.13
Eicosapentaenoic acid (C20:3n3)	0.42	0.34	0.36	0.33
Erucic acid (C22:1)	0.00	0.30	0.16	0.00
Tricosanoic acid (C23:0)	5.24	3.05	2.39	4.23
Eicosapentaenoic acid (C20:5)	36.31	23.31	14.43	33.70
Docosahexaenoic acid (C22:6)	0.00	0.00	0.11	0.00
Degree of unsaturation ^a	213.63	153.67	131.17	200.78
FAME content (%)	53.69	53.06	58.31	56.32
FAME yield (wt.%)	9.66	4.67	4.02	7.04

^aDegree of unsaturation = 1 × monoene (%) + 2 × diene (%) + 3 × triene (%) + 4 × tetraene (%) + 5 × pentaene (%) + 6 × hexaene (%)

있다. 초임계 CO₂ 추출법은 Bligh-Dyer 추출법과 속슬렛 추출법에 비해 FAME 선택도가 높았으나 조지방 수율이 6.9 wt.%로 가장 낮았다. 초임계 CO₂에 공용매로 methanol을 사용한 경우에는 반응 시간 30분에 조지방 수율 12.5 wt.%, FAME 함량 56.32%, FAME 수율 7.04wt.%로 짧은 반응 시간에 비교적 높은 FAME 수율을 얻을 수 있었다. 따라서, 미세조류에서 바이오디젤을 생산하기 위한 지질의 추출에 초임계 CO₂ 추출법이 충분히 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감 사

본 연구는 2013년도 산업통상자원부의 재원으로 한국에너지기술평가원(KETEP)의 지원을 받아 수행한 연구과제입니다(No. 20133030090820).

References

- Demirbas, A., "Progress and Recent Trends in Biodiesel Fuels," *Energy Conv. Manag.*, **50**, 14-34(2009).
- Gavrilescu, M. and Chisti, Y., "Biotechnology - a Sustainable Alternative for Chemical Industry," *Biotechnology Advances*, **23**, 471-499(2005).
- Pulz, O. and Gross, W., "Valuable Products from Biotechnology of Microalgae," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **65**, 635-648(2004).
- Chisti, Y., "Biodiesel from Microalgae," *Biotechnology Advances*, **25**, 294-306(2007).
- Rosenberg, J. N., Oyler, G. A., Wilkinson, L. and Betenbaugh, M. J., "A Green Light for Engineered Algae: Redirecting Metabolism to Fuel a Biotechnology Revolution," *Curr. Opin. Biotechnol.*, **19**, 430-436(2008).
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Kruse, O. and Hankamer, B., "Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production," *Bioenergy Research*, **1**, 20-43(2008).
- Lardon, L., Helias, A., Sialve, B., Steyer, P. and Bernard, O., "Life-Cycle Assessment of Biodiesel Production from Microalgae," *Environ. Sci. Technol.*, **43**(17), 6475-6481(2009).
- Lee, H. S., Jeon, S. G., Oh, Y. K., Kim, K. H., Chung, S. H., Na, J. G. and Yeo, S. D., "Recovery of Lipids from *Chlorella* sp. KR-1 via Pyrolysis and Characteristics of the Pyrolysis Oil," *Korean Chem. Eng. Res.*, **53**, No. 2, April, 2015

- Chem. Eng. Res.*, **50**(4), 672-677(2012).
9. Mata, T. M., Martins A. A. and Caetano, N. S., "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review," *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **14**, 217-232(2010).
 10. Kim, J. K., Um, B. H. and Kim, T. H., "Bioethanol Production from Micro-algae, *Schizocytrium* sp., Using Hydrothermal Treatment and Biological Conversion," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**(2), 209-214(2012).
 11. Mercer, P. and Amenta, R. E., "Developments in Oil Extraction from Microalgae," *European Journal of Lipid Science and Technology*, **113**, 539-547(2011).
 12. Araujo, G. S., Matos, L. J. B. L., Fernandes, J. O., Cartaxo, S., J. M., Gonçalves, L. R. B., Fermamdes, F. A. N. and Farias, W. R. L., "Extraction of Lipids from Microalgae by Ultrasound Application: Prospection of the Optimal Extraction Method," *Ultrason. Sonochem.*, **20**, 95-98(2013).
 13. Shin, H. Y., Ryu, J. H., Bae, S. Y., Crofcheck, C. and Crocker, M., "Lipid Extraction from *Scenedesmus* sp. Microalgae for Biodiesel Production Using Hot Compressed Hexane," *Fuel*, **130**, 66-69(2014).
 14. Taher, H., Al-Zuhair, S., Al-Marzouqi, A. H., Haik, Y., Farid, M. and Tariq, S., "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Microalgae Lipid: Process Optimization and Laboratory Scale-Up," *J. Supercrit. Fluids*, **86**, 57-66(2014).
 15. Tang, S., Qin, C., Wang, H., Li, S. and Tian, S., "Study on Supercritical Extraction of Lipids and Enrichment of DHA from Oil-Rich Microalgae," *J. Supercrit. Fluids*, **57**, 44-49(2011).
 16. Mendes, R. L., Nobre, B. P., Cardoso, M. T., Pereira, A. P. and Palavra, A. F., "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Compounds with Pharmaceutical Importance from Microalgae," *Inorg. Chim. Acta.*, **356**, 328-334(2003).
 17. Cheung, P. C. K., "Temperature and Pressure Effects on Supercritical Carbon Dioxide Extraction of n-3 Fatty Acids from Red Seaweed," *Food Chem.*, **65**, 399-403(1999).
 18. Andrich, G., Nesti, U., Venturi, F., Zinnai, A. and Fiorentini, R., "Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Lipids from the Microalga *Nannochloropsis* sp.," *European Journal of Lipid Science and Technology*, **107**, 381-386(2005).
 19. Couto, R. M., Simões, P. C., Reis, A., Silva, T. L. D., Martins, V. H. and Sánchez-Vicente, Y., "Supercritical Fluid Extraction of Lipids from the Heterotrophic Microalga *Cryptocodinium Cohnii*," *Engineering in Life Sciences*, **10**(2), 158-164(2010).
 20. Choi, K. J., Nakhost, Z., Krukoni, V. J. and Karel M., "Supercritical Fluid Extraction and Characterization of Lipids from Algae *Scenedesmus Obliquus*," *Food Biotechnology*, **1**(2), 268-281(1987).
 21. Sajilata, M. G., Singhal, R. S. and Kamat M. Y., "Supercritical CO₂ Extraction of α -linolenic Acid (GLA) from *Spirulina Platensis* ARM 740 Using Response Surface Methodology," *J. Food Eng.*, **84**, 321-326(2008).
 22. Tang, S., Qin, C., Wang, H., Li, S. and Tian, S., "Study on Supercritical Extraction of Lipids and Enrichment of DHA from Oil-rich Microalgae," *J. Supercrit. Fluids*, **57**, 44-49(2011).
 23. Kinney, A. J. and Clemente, T. E., "Modifying Soybean Oil for Enhanced Performance in Biodiesel Blends," *Fuel Process. Technol.*, **86**, 1137-1147(2005).