Polymer(Korea), Vol. 41, No. 6, pp. 1052-1057 (2017)
https://doi.org/10.7317/pk.2017.41.6.1052

ISSN 0379-153X(Print)
ISSN 2234-8077(Online)

유해녹조로부터 추출된 지질의 전이 에스테르화 반응에 의한 바이오디젤 전환

정경원 · 홍웅길 · 안준혁 · 나재운†
순천대학교 공과대학 고분자공학과
(2017년 6월 28일 접수, 2017년 7월 20일 수정, 2017년 8월 2일 채택)

The Bio-diesel Conversion by Transesterification of Extracted Lipid from Harmful Green-Tide

Gyeong-Won Jeong, Woong-Gil Hong, Jun-Hyuk Ahn, and Jae-Woon Nah†
Department of Polymer Science and Engineering, Sunchon National University, 255 Jungang-ro, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea
(Received June 28, 2017; Revised July 20, 2017; Accepted August 2, 2017)

초록: 현재 우리나라는 인구 밀도의 증가로 인해 에너지 소비량이 점점 증가하고 있는 추세이고, 이러한 에너지 소비 증가는 유가의 폭등과 화석연료의 고갈을 초래하며 대기중의 이산화탄소 농도를 증가시켜 심각한 환경오염을 유발하기 때문에 이를 대응하기 위한 신재생에너지의 개발이 필요하다. 본 연구에서 이러한 석유 및 화석 연료를 대체하기 위한 방법으로 4대강 유역의 유해녹조를 이용하여 최적의 지질 추출조건을 확립하고, 바이오디젤로 사용 가능성을 규명하고자 하였다. 이전에 보고된 연구논문에서 개발된 항녹조 물질을 유해녹조에 처리하여 응집되어 부유한 유해녹조를 포집하여 건조 후 다양한 용매와 초음파 처리 유무에 따라 최적의 추출 조건을 확인한 결과 초음파 처리와 동시에 chloroform/methanol/water 혼합용매를 이용했을 시 가장 많은 지질이 추출됨을 확인하였고, 이 조건에서 추출된 지질을 이용하여 fatty acid methyl ester(FAME)로 전환했을 시 바이오디젤로 사용하기 가장 적합함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 4대강 유역의 유해녹조를 재활용한다면 차세대 에너지로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

Abstract: At present, the energy consumption of Korea is increasing due to the increase of population density. Such an increase in energy consumption leads to a rise in oil prices and depletion of fossil fuels, and increases the concentration of carbon dioxide in the atmosphere, thereby causing serious environmental pollution. It is necessary to develop new and renewable energy to overcome this. The purpose of this study is to establish the optimum conditions of lipid-extraction using harmful green algae in the four rivers to substitute a petroleum and fossil fuels, and to investigate the possibility of using them as biodiesel. The antigreen-tide substances developed in the previously reported research papers were treated on the harmful green algae, and the flocculated and floating harmful green algae were collected. After drying, the optimal extraction conditions were confirmed according to the presence of various solvents and the ultrasonic treatment. As a result, in the chloroform/methanol/water mixed solvent, the most lipid was extracted and it was confirmed that it was most suitable for utilization as biodiesel when converted to fatty acid methyl ester (FAME) using extracted lipid under this condition. These results suggest that if the harmful green algae of the four major rivers are recycled, they can be utilized as next generation energy.

Keywords: harmful green-tide, lipid extraction, transesterification, bio-diesel.

서 론

현재 우리나라는 인구 밀도의 증가로 인해 에너지 소비량이 점점 증가하고 있는 추세이고, 이러한 에너지 소비 증가는 유가의 폭등과 화석연료의 고갈을 초래하며 대기 중의 이산화탄소 농도를 증가시켜 심각한 환경오염을 유발하기 때문에 이를 대응하기 위한 신재생에너지의 개발이 시급한 상황이다.[1,2] 화석에너지를 대체하기 위한 수단으로 풍력, 지열, 조력, 태양열 에너지를 이용하고 있지만 화석에너지의 사용량을 대체할 수 있는 잠재력 면에서 그 양이 적을 뿐만 아니라 국지적으로 한정되어 있으며 에너지 전환 효율 면에서도 한계를 나타내고 있다.[3] 하지만, 생물자원인 바이오에너지는 지구상에 풍부하게 존재하여 고갈될 염려가 없으며 그 생산 및 이용 공정이 환경 친화적이므로 궁극적인 차세대 대체 에너지원으로 각광받고 있다.[4]

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: jwnah@sunchon.ac.kr
©2017 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

석유대체가 가능한 바이오 연료인 바이오디젤은 식물성 유지, 동물성 지방, 폐식용유 또는 미세조류 등을 원료로 하여 산, 염기 촉매 하에서 메탄올과 같은 값 싼 알코올과 반응시켜 생성되는 알킬 에스테르이다.[5,6] 현재 바이오디젤 생산은 원료의 대부분이 식용 작물을 이용하고, 이를 이용하여 바이오디젤 생산량을 증가하고자 할 경우에는 심각한 식량 고갈의 문제를 초래할 수 있다.[7,8] 이러한 문제를 해결하기 위해 본 연구에서는 비식용 원료인 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 개발하고 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

미세조류는 빛에너지를 화학에너지로 전환시키는 광합성을 통해 이산화탄소를 포도당으로 전환시키며 소모하고 남겨진 포도당을 중성 지질인 triglyceride 형태로 저장하는데 바이오디젤의 주원료인 triglyceride를 추출하여 fatty acid methyl ester(FAME)로 전환하는 것이 미세조류의 바이오디젤 전환 방법이다.[9,10] 본 연구실에서는 4대강 유역의 심각한 신경독소를 갖는 유해녹조인 *microcystis sp.*를 응집 및 살조할 수 있는 항녹조 물질을 개발하였고, 유해녹조에 대한 최적의 응집 및 살조 농도뿐만 아니라 메카니즘을 이전 연구를 통해 보고한 바 있다.[11,12] 또한 이러한 항녹조 물질은 유해녹조를 빠르게 응집하여 수면으로 부유시키는 특성을 갖고 있고, 부유한 유해녹조를 손쉽게 포집할 수 있다는 장점을 갖고 있다.[11,12] 본 연구에서는 이러한 특성을 갖는 항녹조 물질을 유해녹조에 처리하여 부유한 유해녹조를 재활용하여 바이오디젤로 사용 가능성을 확인하고자 한다.

본 연구에서는 응집 및 살조되어 수면으로 부유한 유해녹조를 포집하여 지질을 추출하고 이를 전이 에스테르화 반응을 통해 바이오디젤로 재활용 가능성을 확인하고자 하였다. 이전 연구를 통해 개발된 항녹조 물질을 이용하여 수면으로 부유한 유해녹조를 포집하고, 이를 다양한 용매를 통해 최적의 지질 추출 조건을 확립하였으며, 추출된 지질을 전이 에스테르화를 통해 FAME을 분석하였다. 본 연구 결과를 통해 포집된 유해녹조를 이용하여 석유에너지 대체 자원인 바이오디젤로 활용할 수 있음을 제시한다.

실 험

재료. 실험에 사용된 녹조류는 영산강 죽산보 인근 지류에서 발생된 녹조(2016년 7월 발생)를 채취하여 냉장 보관하여 본 연구에 사용하였다. 또한 본 연구에서는 이전 연구를 통해 보고되어진 항녹조 물질을 처리하여 수면으로 부유된 녹조를 포집하여 건조한 후 실험에 사용되었다.[11,12] 기타 실험에 사용된 용매 및 시약 등은 일급 시약을 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

포집된 유해녹조의 건조. 이전 연구를 통해 보고되어진 항녹조 물질을 유해녹조가 분산되어 있는 5 L 비이커에 응집 최적의 농도를 계산하여 처리한 후 부유한 유해녹조를 포집하였고,[11,12] 포집된 유해녹조를 3차 증류수에 2회 세척한 후 동결 건조를 통해 최종적으로 건조된 유해녹조를 얻어 본 연구에 사용하였다.

유해녹조에 대한 최적의 지질 추출 조건 확립. 유해녹조로부터 최적의 지질 추출 조건을 확립하기 위해 다양한 용매와 초음파 처리 유무에 따른 지질 함량을 확인하였다.[13] 건조된 유해녹조 100 mg을 chloroform/methanol/water(1/2/0.8, v/v/v) 혼합 용매와 chloroform, methanol, hexane, ether 용매를 각각 15.2 mL를 넣고 1분간 잘 혼합한다(Figure 1). 혼합된 용액에 초음파를 1분간 처리하고 4000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 원심분리된 상층액을 미리 무게가 측정된 알루미늄 dish에 옮기고, 50 ºC의 오븐에서 용매를 모두 증발시킨 후에 증발된 알루미늄 dish를 전자저울을 이용하여 무게를 측정한다. 본 지질 추출에서는 초음파를 처리했을 때와 처리하지 않았을 때 2개의 군으로 실험을 진행하여 지질 함량을 비교하였다. 녹조로부터 추출된 지질의 함량은 다음과 같은 식으로 계산되었다.

$$\text{Lipid content (\%)} = \left[\frac{(\text{Dried lipid (mg)} + \text{Aluminium dish (mg)}) - (\text{Aluminium dish (mg)})}{\text{Dried green-tide (mg)}}\right] \times 100$$

추출된 지질의 전이 에스테르화 반응 및 FAME 분석. 추출된 지질을 FAME으로 전환하기 위해 산-촉매 방법을 이용하여 전이에스테르화하였다(Figure 1). 각각의 용매와 초음파 유무에 따라 추출된 지질 5 mg을 chloroform/methanol(2/1, v/v) 혼합 용매 0.2 mL를 넣고 잘 혼합한다. 혼합 후에 0.6 M HCl이 혼합된 methanol 용매 0.3 mL을 넣고 85 ºC에서 1시간 동안 중탕으로 가열한다. 상온에서 15분 동안 냉각한 후 *n*-haxane 1 mL을 넣고 혼합 후 층 분리가 될 때까지 최소 1시간 방치한다. 상등액의 *n*-hexane 층만 바이알에 옮긴 후에 이를 1 μL를 취하여 gas chromatograph(YL Instrument 6500GC equipped with FID detector)에 injection하여 FAME을 분석하였다. 이때 gas chromatograph의 측정 조건은 inlet temperature: 260 ºC, detector temperature: 260 ºC, oven temperature: 140 ºC, 운반 가스로 헬륨(helium)을 사용, detector gas는 H_2 35 mL/min, air 300 mL/min, He 20 mL/min으로 설정하였으며, 주입 부피는 1 μL이다. 분석을 위해 FAME mix 14 C8-C24(Sigma Aldrich #18918-1AMP)를 standard로 사용하였다.

결과 및 토론

포집된 유해녹조로부터 최적의 지질 추출 조건 규명. 본 연구실에서는 4대강 유역의 유해녹조를 응집 및 살조할 수 있는 항녹조제를 개발하여 응집 및 살조 최적농도뿐만 아니라 메카니즘을 규명하여 보고하였다.[11,12] 또한 개발된 항녹조

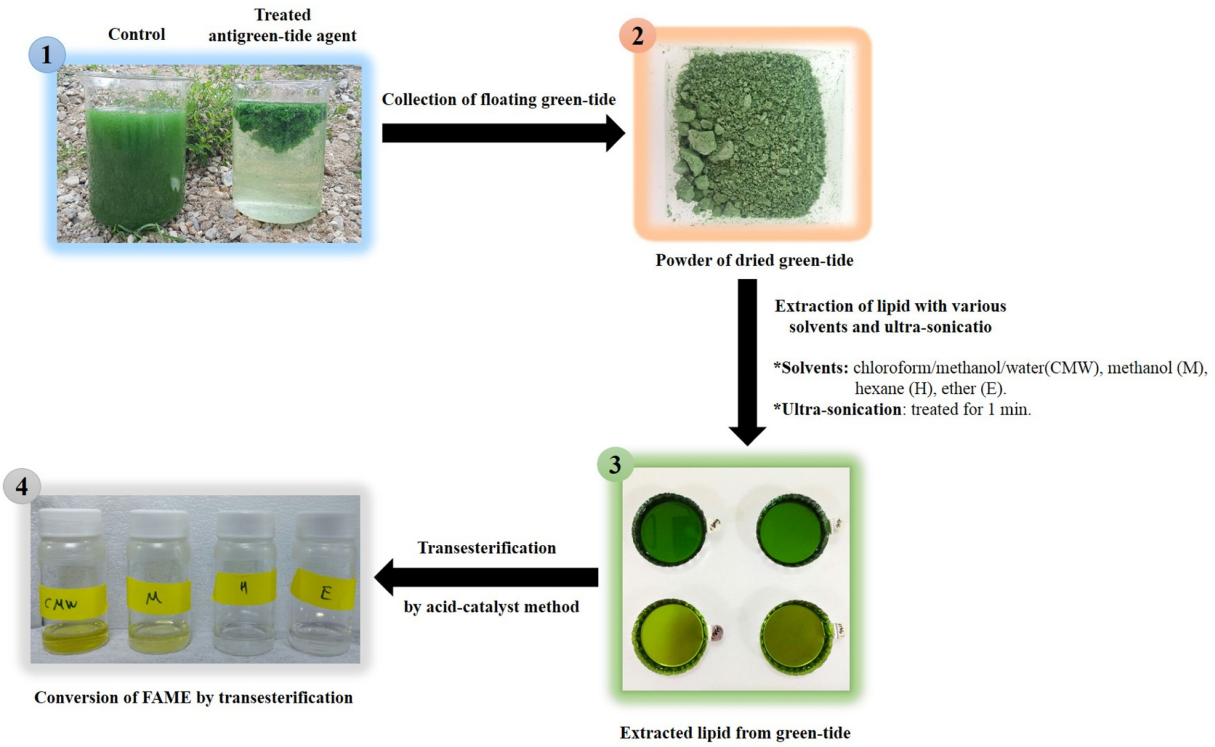

Figure 1. Process of bio-diesel conversion using various solvents from harmful green-tide.

Table 1. Amount of Extracted Lipid with Pre-treated Ultrasonication

	Solvent				
	Chloroform/Methanol/Water	Chloroform	Methanol	Hexane	Ether
Amount of lipid (mg)	12.4	5.0	7.5	1.0	4.0

Table 2. Amount of Extracted Lipid with Non-treated Ultrasonication

	Solvent				
	Chloroform/Methanol/Water	Chloroform	Methanol	Hexane	Ether
Amount of lipid (mg)	7.7	2.6	3.8	1.3	2.9

물질은 유해녹조를 응집하여 수면으로 빠르게 부유시키는 특성을 갖고 있어 손쉽게 유해녹조를 포집하여 제거할 수 있다는 장점을 갖고 있다.[11,12] 본 연구에서는 이러한 특성을 갖는 항녹조 물질을 이용하여 부유된 유해녹조를 포집하여 지질 추출 최적 조건을 확립하고 전이 에스테르화를 통해 바이오디젤로 사용 가능성을 확인하고자 하였다. Table 1, 2와 Figure 2는 항녹조 물질을 처리하여 부유된 유해녹조를 포집하여 건조시킨 후에 다양한 용매와 초음파 처리 유무에 따른 지질 추출 함량을 분석한 결과이다. 그 결과 chloroform/methanol/water 혼합용매에서 가장 많은 양의 지질이 추출됨을 확인할 수 있었고, hexane 용매에서 가장 적은 양의 지질이 추출됨을 확인할 수 있었다. 이는 많은 양의 지질을 추출하기 위해서는 녹조의 두꺼운 막을 파괴할 수 있는 용매가 필요하고, 막 파괴 시 유출되는 성분이 비극성 지질과 극성 물질이 다량 함유하고 있는데 이러한 비극성 지질과 극성 물질을 분리할 수 있는 용매를 사용했을 때 높은 순도의 지질을 추출할 수 있다. 이러한 이유로 chloroform/methanol/water 혼합용매를 이용하여 지질을 추출하였을 때 가장 지질 함량이 높은 것으로 사료된다.[14] 또한 초음파가 처리되었을 때 모든 용매에서 지질 추출 함량이 증가되는 것을 확인할 수 있었는데, 이러한 결과는 초음파가 처리됨으로써 녹조의 분산을 용이하게 만들어 용매가 녹조의 막과 닿는 면적이 증가하여 효율적으로 막을 파괴하기 때문인 것으로 사료된다.[15] 이러한 결과를 통해 chloroform/methanol/water 혼합용매와 초음파를 동시에 처리하였을 때 가장 많은 양의 지질을 추출할 수 있는 최적의 조건임을 확인할 수 있었다.

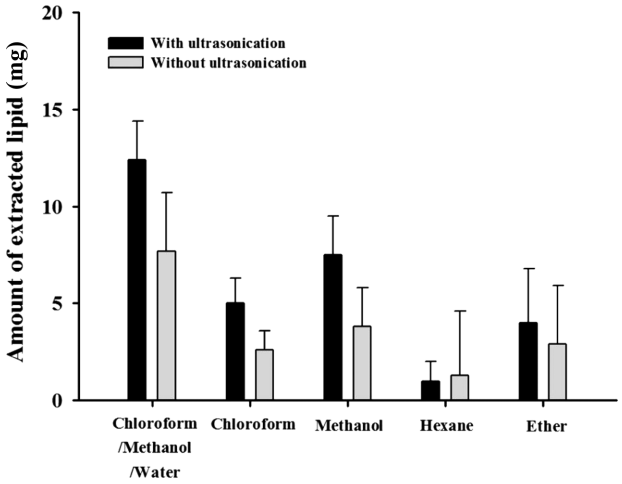

Figure 2. Amount of extracted lipid according to solvent and ultrasonication.

추출된 지질의 전이 에스테르화를 통한 바이오디젤 전환 및 FAME 분석. 바이오디젤에서는 포화지방산과 불포화지방산의 비율이 매우 중요하다. 포화지방산은 산화안정적이지만 저온유동성면에서 젤화되기 쉽고, 불포화지방산의 경우 저온유동성에서 안정적이나 산화에 매우 민감하여 화학적으로 매우 불안정하다. 이러한 이유로 바이오 연료로 사용하기 위해서는 포화지방산과 불포화지방산의 비율이 적절하게 존재하는 것이 중요하다. 본 연구에서는 다양한 조건에 의해 추출된 지질로부터 지방산의 비율을 확인하기 위해 지질을 산-촉매 조건하에서 전이에스테르화하여 FAME으로 전환하였으며, 이를 gas chromatograph를 통해 FAME을 분석하였다. Table 3, 4와 Figure 3-5는 다양한 용매와 초음파 처리유무에 따라 추출된 지질을 FAME으로 전환하여 분석한 결과이다. 그 결과 chloroform/methanol/water 혼합 용매를 이용하여 추출된 지질을 FAME으로 전환했을 때 포화지방산(C10:0, C14:0, C17:0, C20:0)과 불포화 지방산(C18:1, C18:2) 비율이 각각 57.6, 42.4%로 나타났다. 하지만, 단일 용매인 chloroform과 methanol에서는 추출된 지질을 FAME 전환했을 시 포화지방산 비율이 매우 높은 것을 확인할 수 있었다. 이러한 이유는 앞서 지질의 최적의 추출 조건에서 확인할 수 있었듯이 chloroform/methanol/water 혼합 용매가 효율적으로 녹조 막을 파괴함과 동시에 비극성 지질과 극성 물질을 효율적으로 분리함으로써 높은 순도를 갖는 지질을 이용하여 FAME으로 전환했기 때문에 포화지방산과 불포화 지방산의 비율이 유사하게 존재하는 것으로 사료된다.[14] 또한 초음파를 동시에 처리하여 추출된 지질을 FAME으로 전환 시 초음파를 처리하지 않고 추출된 지질을 FAME으로 전환했을 때보다 모든 용매 조건에서 포화지방산과 불포화지방산 비율이

Table 3. Analysis of FAME from Extracted Lipid with Pre-treated Ultrasonication

Fatty acid	FAME Composition	FAME (%)		
		Chloroform/Methanol/Water	Chloroform	Methanol
Decanoic acid	C10:0	7.0	31.4	17.1
Mytristic acid	C14:0	2.7	-	3.1
Heptadecanoic acid	C17:0	19.8	45.2	42.3
Oleic acid	C18:1	28.3	23.5	37.4
Linoleic acid	C18:2	14.1	-	-
Archidonic acid	C20:0	28.1	-	-
Total (%)		100.0	100.0	100.0

Table 4. Analysis of FAME from Extracted Lipid with Non-treated Ultrasonication

Fatty acid	FAME Composition	FAME (%)		
		Chloroform/Methanol/Water	Chloroform	Methanol
Decanoic acid	C10:0	13.9	100.0	21.8
Mytristic acid	C14:0	4.0	-	-
Heptadecanoic acid	C17:0	43.0	-	44.6
Oleic acid	C18:1	39.2	-	33.6
Linoleic acid	C18:2	-	-	-
Archidonic acid	C20:0	-	-	-
Total (%)		100.0	100.0	100.0

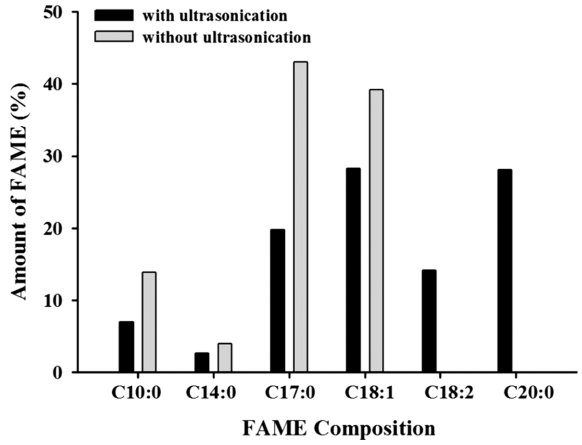

Figure 3. Analysis of FAME by transesterification from extracted lipid with chloroform/methanol/water solvent.

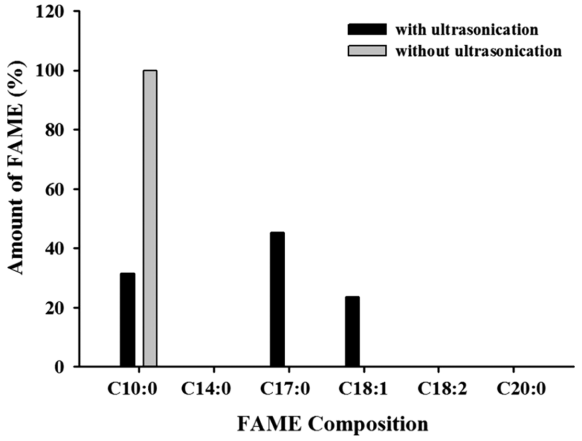

Figure 4. Analysis of FAME by transesterification from extracted lipid with chloroform solvent.

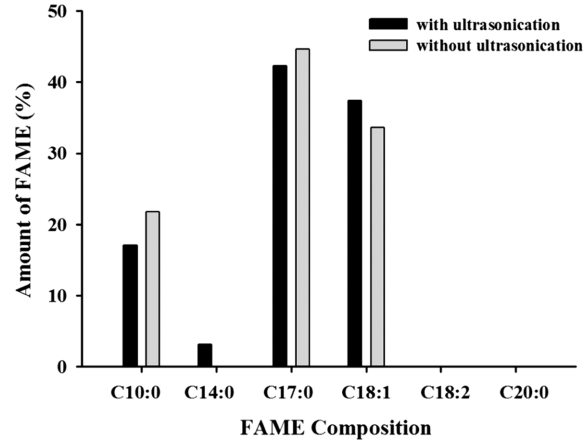

Figure 5. Analysis of FAME by transesterification from extracted lipid with methanol solvent.

적절하게 존재함을 확인할 수 있었다. 이는 초음파를 처리하였을 시 녹조가 잘 분산됨으로써 용매가 녹조의 막에 닿는 표면적이 증가하여 효율적으로 지질이 추출되었기 때문인 것으로 사료된다.[15] 이러한 FAME 분석을 통해 초음파 처리와 동시에 chloroform/methanol/water 혼합 용매를 이용하여 추출된 지질을 FAME으로 전환하였을 때 바이오 연료로 사용하기 가장 적합한 조건임을 확인할 수 있음과 동시에 바이오 연료로 사용이 가능함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들을 통해 이전에 개발되어 보고된 항녹조 물질을[11,12] 처리하여 빠르게 응집되어 부유된 유해녹조가 바이오디젤로 사용 가능하다는 것을 확인함으로써 차세대 석유에너지 대체 자원으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

본 연구에서는 4대강 유역의 유해녹조를 포집하여 바이오디젤로 재활용 가능성을 확인하고자 하였다. 4대강 유역에서 채취한 녹조에 이전에 개발되어 보고된 항녹조 물질을 처리하여 응집되어 부유한 유해녹조를 포집하여 건조하였으며, 건조된 유해녹조를 다양한 용매와 초음파 처리 유무에 따른 최적의 지질 추출 조건을 확립하였다. 그 결과 초음파 처리와 동시에 chloroform/methanol/water 혼합용매를 이용하여 지질을 추출하였을 때 지질 함량이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한 추출된 지질을 전이 에스테르화하여 FAME을 분석한 결과 초음파 처리와 동시에 chloroform/methanol/water 혼합용매를 이용하여 추출된 지질을 FAME으로 전환했을 시 포화 지방산과 불포화 지방산이 가장 적절하게 존재함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 초음파 처리와 동시에 chloroform/methanol/water 혼합용매를 이용했을 때 최적의 지질 추출 조건임을 확인하였고, 이를 FAME으로 전환했을 시 바이오디젤로 사용 가능한 것을 확인함으로써 4대강 유역의 유해녹조를 재활용한다면 석유대체 자원으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글: 이 논문은 2014년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2014R1A2A 1A10053027).

References

1. X. Liu, A. F. Clarens, and L. M. Colosi, *Bioresour. Technol.*, **104,** 803 (2012).
2. P. H. Pfromm, V. Amanor-Boadu, and R. Nelson, *Bioresour. Technol.*, **102**, 1185 (2011).
3. D. K. Ramesha, G. P. Kumara, Lalsaheb, A. V. Mohammed, H. A.

Mohammad, and M. A. Kasma, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **23,** 9432 (2016).
4. A. Sathish and R. C. Sims, *Bioresour. Technol.*, **118,** 643 (2012).
5. S. A. Scott, M. P. Davey, J. S. Dennis, I. Horst, C. J. Howe, D. J. Lea-Smith, and A. G. Smith, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **21**, 277 (2010).
6. J. L. Csavina, B. J. Stuart, R. G. Riefler, and M. L. Vis, *J. Appl. Microbiol.*, **111**, 312 (2011).
7. T. Igou, S. W. Van Ginkel, P. Penalver-Argueso, H. Fu, S. Doi, A. Narode, S. Cheruvu, Q. Zhang, F. Hassan, F. Woodruff, and Y. Chen, *Water Environ. Res.*, **86**, 2325 (2014).
8. L. Zhu, Z. Wang, Q. Shu, J. Takala, E. Hiltunen, P. Feng, and Z. Yuan, *Water Res.*, **47**, 4294 (2013).
9. E. Valero, X. Alvarez, A. Cancela, and A. Sanchez, *Bioresour. Technol.*, **187**, 255 (2015).
10. P. Nautiyal, K. A. Subramanian, and M. G. Dastidar, *J. Environ. Manage.*, **182**, 187 (2016).
11. H. S. Lee, G. W. Jeong, C. Y. Choi, and J. W. Nah, *Polym. Korea*, **41**, 561 (2017).
12. H. S. Lee, G. W. Jeong, C. Y. Choi, G. N. Ahn, and J. W. Nah, *J. Chitin Chitosan*, **22**, 47 (2017).
13. E. G. Bligh and W. J. Dyer, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37,** 911 (1959).
14. G. Brownbridge, P. Azadi, A. Smallbone, A. Bhave, B. Taylor, and M. Kraft, *Bioresour. Technol.*, **151**, 166 (2014).
15. X. Zhou, H. Ge, L. Xia, D. Zhang, and C. Hu, *Bioresour. Technol.*, **134**, 24 (2013).