

2012 년 2 월
석사학위논문

**미세조류 배양을 위한 평판형
광생물반응기에서의 성장조건
최적화에 관한 연구**

조선대학교 대학원

기계공학과

오 주 열

**미세조류 배양을 위한 평판형
광생물반응기에서의 성장조건
최적화에 관한 연구**

A Study on optimization of the growth conditions
for microalgae cultivation in the flat panel
photobioreactor

2012年 2月 24日

조선대학교대학원

기계공학과

오주열

미세조류 배양을 위한 평판형
광생물반응기에서의 성장조건
최적화에 관한 연구

지도교수 정 상 화

이 논문을 공학석사학위 논문으로 제출함.

2011 年 11 月

조 선 대 학 교 대 학 원

기 계 공 학 과

오 주 열

오주열의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 박종락 印

위원 조선대학교 교수 이규태 印

위원 조선대학교 교수 정상화 印

2011 年 11 月

조선대학교 대학원

목 차

LIST OF TABLES	IV
LIST OF FIGURES	V
ABSTRACT	VII
제 1 장 서 론	1
제 1 절 연구 배경	1
제 2 절 연구 동향	4
제 3 절 연구 내용	7
제 2 장 미세조류	8
제 1 절 미세조류의 일반적 특성	8
제 2 절 <i>Chlorella</i> sp.	11
제 3 장 평판형 광생물반응기	12

제 1 절 평판형 광생물반응기 설계	12
제 2 절 평판형 광생물반응기에서의 배양시스템	16
제 4 장 평판형 광생물반응기에서의 미세조류	
배양	21
제 1 절 실험 장치 구성	21
1. 미세조류 선정	21
2. 시스템 구성	23
제 2 절 분석 방법	24
제 3 절 <i>Chlorella</i> 배양	25
1. 배지조성	25
2. 조건 변화에 따른 배양	28
가. 광생물반응기의 구조 변화에 따른 배양	28
나. 광생물반응기의 용량 변화에 따른 배양	34
제 5 장 결 론	42

1. 연구결과 42

2. 향후 연구방향 43

참 고 문 헌 44

LIST OF TABLES

Table 1 Comparison of oil yield for the type of raw material	2
Table 2 Characteristics of photobioreactors	4
Table 3 Transmissivity for different plastic materials	13
Table 4 Lipid contents and productivities of different microalgae species	22
Table 5 TAP-salt solution	26
Table 6 Phosphate solution	26
Table 7 Trace elements solution	27
Table 8 Total stock solution composition	27
Table 9 Optical Density(680nm) in two types of photobioreactor ...	32
Table 10 Dry weight(g/L) in two types of photobioreactor	33
Table 11. Size and S/V ratio of photobioreactors	35
Table 12 Optical Density(680nm) of various sizes	38
Table 13 Dry weight(g/L) of various sizes	39
Table 14 Biomass production per unit volume	41

LIST OF FIGURES

Fig. 1 Global oil production	1
Fig. 2 Type of microalgae cultivation system	6
Fig. 3 Contents of study	7
Fig. 4 Various types of microalgae	8
Fig. 5 Microalgae from the synthesis of useful materials by photosynthesis	9
Fig. 6 Microscope view of <i>Chlorella</i>	11
Fig. 7 Illustration for the reflection, absorption and transmission of light in the photobioreactor panel	13
Fig. 8 Solidworks design of flat-panel photobioreactor case	14
Fig. 9 CO ₂ circulation experiment	15
Fig. 10 Flat-panel photobioreactor system	16
Fig. 11 Example of static mixer	17
Fig. 12 Examples of dynamic mixer	17
Fig. 13 Airlift system	18
Fig. 14 Design of a rectangular air-lift photobioreactor with light redistributing plates and external light collection	19
Fig. 15 LED-panel	20
Fig. 16 Schematic diagram of cultivation system	23
Fig. 17 Calibration curve	24
Fig. 18 Structural change of 15L flat-panel photobioreactor	28

Fig. 19 Photograph of time varying density of <i>chlorella</i>	29
Fig. 20 Microscope view of <i>Chlorella</i> (x1000)	31
Fig. 21 Microscope view of <i>Chlorella</i> (x400)	31
Fig. 22 Optical density according to day	32
Fig. 23 Growth curve of <i>Chlorella</i>	33
Fig. 24 Volume of different flat-panel photobioreactors	34
Fig. 25 Concentration of <i>Chlorella</i> at 1-4 days of each photobioreactor	36
Fig. 26 Concentration of <i>Chlorella</i> at 6-10 days of each photobioreactor	37
Fig. 27 Optical density according to day	38
Fig. 28 Growth curve of <i>Chlorella</i>	39
Fig. 29 Microscope view of <i>Chlorella</i> (x400)	40

ABSTRACT

A study on optimization of the growth conditions for microalgae cultivation in the flat panel photobioreactor

Oh Ju Yeol

Advisor : Prof. Jeong, Sang-Hwa, Ph.D.
Department of Mechanical Engineering,
Graduate School of Chosun University

In recent years, the demands of bioenergy utilization are increased as the importance of environmental conservation become bigger. At first, the mass cultivation and high concentration of microalgae using photobioreactor are required in order to convert bio resources to applicable energy source. The open-pond system were developed to improve the microalgae cultivation and massively operated for the product derived from a lot of micro-organisms. However, in the aspect of the efficiency of light utilization, the closed photobioreactor system is far superior than open-pond. The recently developed flat-panel photobioreactor can efficiently cultivate microalgae in the small space. For the reason many researchers are focusing on the development of this system.

In this study, the effect of the structure and the size of photobioreactor is

investigated in order to obtain the optimal culture conditions of microalgae and scale-up of the reactor. *Chlorella* is selected based on the lipid-rich and easy-to-cultured. The flat-panel photobioreactor with the various size, which are 5 L, 15 L, 25 L, and 50 L are fabricated and two types of 15 L photobioreactor with the different structure are constructed.

Chlorella was cultivated in both the photobioreactor with blade and without blade to investigate the effect of structure. The experimental result shows that the bioreactor with blade showed rapider growth rate of *Chlorella* than the reactor without blade. This result means that the light source could be effectively provided to *Chlorella* in the photobioreactor with blade because of the active circulation of CO₂ and medium, and non(or minimum)-precipitation. Therefore, the airlift system and the static stirring system should be applied to photobioreactor for the high condensed cultivation.

The experiment which investigates the relationship between the size of photobioreactor and the grows rate of *Chlorella* is performed to verify the feasibility of scale-up. The flat-panel photobioreactors with 5 L, 25 L, 50 L capacity and the same structure are used. According to the result, it is verified that the smaller photobioreactor, the rapid growth rate was shown since the higher density of *Chlorella* makes the light penetration ratio smaller. However the difference of growth rate was insignificant. Therefore, it is expected that the bigger size of photobioreactor can be more efficient in the view of mass production.

제 1 장 서 론

제 1 절 연구 배경

오늘날 전 세계 에너지수요의 약 80 %는 화석연료에서 생산된다. 그러나 화석 연료의 무분별한 사용으로 인해 석유/천연가스 등 주요 에너지 자원의 평균 가채연수(Reserve-to-production ratio)가 각각 40.5년과 63.3년 정도로 전세계적인 에너지원의 고갈 현상이 가속화되고 있다. 주요 기간산업과 전력발전의 에너지원인 석유의 경우 Fig. 1에서와 같이 2010-2012년 사이에 최대 생산시점인 피크오일(Peak oil)을 통과하여 지속적인 감산이 예상되고 있으므로 이에 대한 신규 에너지원의 확보가 절실히 필요한 상황이다^[1].

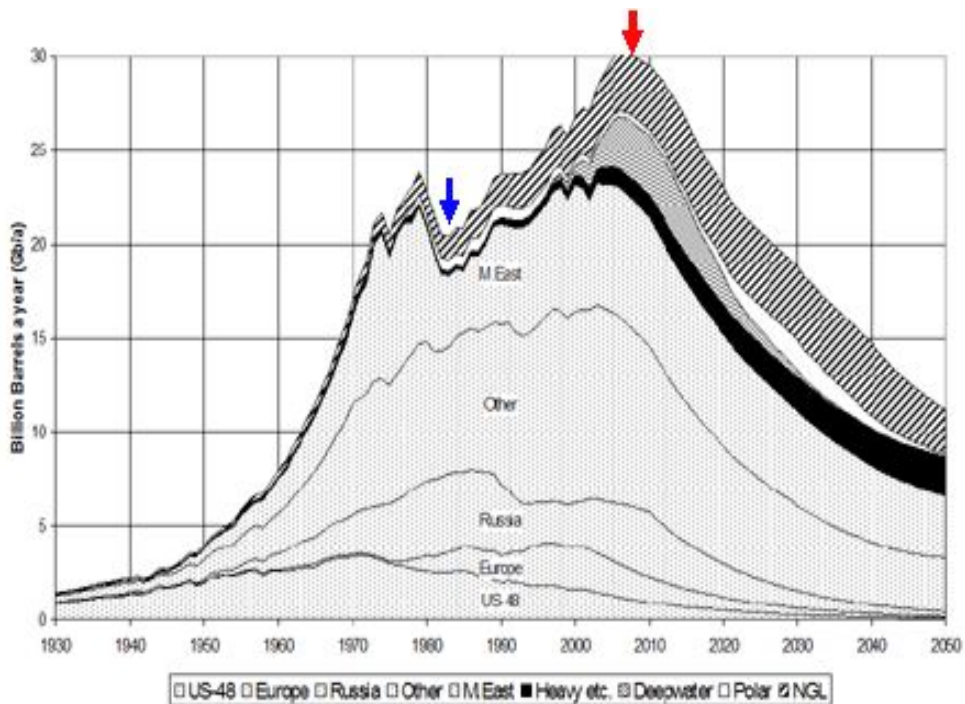


Fig. 1 Global oil production^[1]

1997년에 제정된 교토의정서에 따라 38개 선진국들은 2009-2012년까지 대기 가스 배출량을 1990년 배출 기준으로 평균 5.2 % 이상 감축해야 한다. 온실 가스의 주요 성분인 CO₂ 가스의 포집과 활용을 통한 온실 가스 배출량 감소 및 이를 이용한 에너지원 개발 기술에 대한 관심이 증대되고 있다. CO₂ 가스의 포집과 신재생에너지 생산이 동시에 가능한 바이오 연료/에너지 관련 기술개발에 대한 관심이 높아지고 있으며 바이오 연료/에너지원의 경우 1세대 식용 바이오매스와 2세대 목질계 바이오매스에 대해서는 이미 상용화 또는 실증 연구가 수행되고 있으며, 최근에는 제 3세대 해조류/미세조류(microalgae) 바이오매스에 대한 연구가 시작되고 있다. 미세조류는 광합성을 하기 때문에 대량으로 배출되는 이산화탄소를 고정하여 바이오매스를 생산하고, 이를 바이오에너지로 전환시킬 수 있으므로 지구온난화 방지와 재생에너지 생산이라는 일석이조의 효과를 지니고 있으므로 이러한 측면에서 미세조류는 훌륭한 대안이라고 볼 수 있다.

바이오 에너지를 대량 생산하기 위해서는 바이오매스(Biomass)의 대량 생산이 수반되어야 한다. 현재 옥수수, 콩 등 식량 바이오매스에서 바이오 에너지를 추출하는 기술이 상용화되고 있으나, 이 방법의 경우 인류의 식량 자원과 연계되어 있고 Table 1 과 같이 수율도 현저히 낮아 새로운 형태의 바이오매스를 확보하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다^[2].

Table 1 Comparison of oil yield for the type of raw material^[27]

Materials	Oil production (L/ha)	Area requirements (M ha)
Corn	172	1540
Beans	446	594
Canola	1,190	223
Jatropha	1,892	140
Coconut	2,689	99
Palm oil	5,950	45
Microalgae (70% Production)	136,900	2
Microalgae (30% Production)	58,700	4.5

바이오 에너지를 다양한 목적으로 이용하기 위해서는 광생물반응기를 이용한 미세조류의 고농도 및 대량배양이 필요하다. 미세조류의 생산성 향상을 위하여 개방형 연못시스템과 밀폐형 광생물반응기 시스템이 경쟁하는 관계에 있고, 현재 개방형 연못은 각종의 미세유기체로부터 유도되는 제품생산을 위해 대규모로 운영되고 있으나 미세조류 당 오일생산량과 광효율 측면에서는 광생물반응기 시스템이 월등히 우수한 것으로 알려져 있다. 최근 개발되고 있는 평판형 광생물반응기는 미세조류를 좁은 면적에서 대량으로 생산할 수 있어, 이 기술개발에 관심이 매우 집중되고 있으며 본 연구 또한 미세조류를 배양하는데 있어서 고농도 대량생산이 가능한 평판형 광생물반응기를 개발하였으며 미세조류의 성장 조건을 최적화하였다.

제 2 절 연구 동향

바이오매스를 대량 생산하기 위한 광생물반응기는 Fig. 1 과 같이 매우 다양한 형태로 개발되고 있다. 미세조류를 효율적으로 배양하기 위해서는 광생물반응기 시스템이 필수적이며 최근 들어 미세조류 생산성 향상을 위해 사용되는 광생물반응기는 크게 실외에서 배양하는 개방형과 실내에서 배양하는 밀폐형 배양기로 분류할 수 있다. Table 2 에 광생물반응기의 종류와 특성을 나타내었다^[3].

Table 2 Characteristics of photobioreactors^[3]

System	Raceway ponds	Tubular photobioreactor	Flat panel photobioreactor
Light efficiency	Fairly good	Excellent	Excellent
Temperature control	None	Excellent	Excellent
Gas transfer	Poor	Low-high	Low-high
Oxygen accumulation	Low	High	Low
Biomass concentration	Low	High	High
Sterility	Low	High	High
Cost to scale-up	Low	High	High
Volumetric productivity	Low	High	High
Energy demand per kg biomass produced	High	High	Low

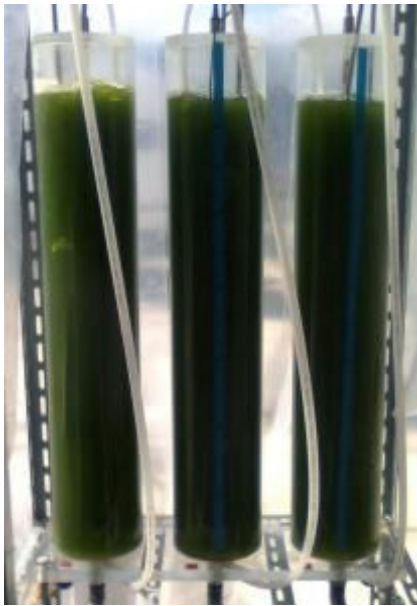
Fig. 2 (a)에 나타난 개방형 배양시스템의 경우 수로형 연못(Raceway pond)의 형태로 자연적으로 영양원 공급이 풍부한 개방된 연못 등에서 배양하는 것이다. 초기 설비투자 비용이 저렴하여 경제성이 우수하고 대량생산이 용이한 장점이 있어 일반적으로 상용화된 미세조류 대량 생산시스템이다. 그러나 광원이 고르게 전달되지 않아 미세조류의 성장속도 및 수율이 낮으며, 배양 조건 제어의 어려움과 오염에 노출되어 있어 장기간의 성장이 어렵고 넓은 면적의 장소가 요구되는 단점이 있다^[4]. 또한 미세조류의 침전이 일어나는 점과 순환식 연못의 경우 중앙부에 효과적인 교반이 어려워 미세조류의 효과적 전이가 현저히 감소되기 때문에 생산성이 낮다.

밀폐형 광생물반응기는 관형과 평판형이 있는데 Fig. 2 (b)에 나타난 관형 광생물반응기(Tubular photobioreactor)의 경우 미세조류의 밀폐형 배양장치 중 가장 많이 쓰이는 형태로 유리 또는 플라스틱 재질을 주로 사용한다. 대량 배양을 위해 관이 직경을 증가시킬수록 광원을 흡수하는 표면적이 상대적으로 감소하는 단점을 지니기 때문에 효과적인 교반시스템 또는 광원 시스템을 추가적으로 구비해야 하며, 이 때 관의 길이는 제한을 받을 수밖에 없다^[5].

평판형 광생물반응기(Flat-panel photobioreactor)는 1953년 Milner에 의하여 개발되어 가장 일반적인 형태로 자리 잡고 있다. 고농도 배양을 위한 광생물반응기는 반드시 단위 체적당 표면적(S/V ratio) 비가 높아야 하는데 이를 높이는 가장 쉽고 간단한 방법이 평판형이다. 보편적으로 옥외 배양용 평판형 광생물반응기는 수직 원주형 광생물반응기의 단점을 개선하기 위하여, 보다 많은 빛을 흡수할 수 있는 각도로 기울여 설치한다^[6-8]. Fig. 2 (c)에 일반적인 형태를 나타내었다. 1985년에는 캐나다의 Samson과 Leduy에 의해 채광개선을 위한 형광램프 장착형 평판형 광생물반응기가 개발되었으며, 이후 프랑스의 Ramos와 Roux는 투명 PVC 재질을 사용한 광생물반응기를 개발하였다.



(a) Raceway pond type



(b) Tubular type



(c) Flat panel type

Fig. 2 Type of microalgae cultivation system^[28-30]

제 3 절 연구 내용

본 논문에서는 평판형 광생물반응기를 이용하여 미세조류를 고농도 배양하고 성장 조건을 최적화하는 것에 관한 연구를 Fig. 3 과 같이 진행 하였다.

- 평판형 광생물반응기를 이용한 배양 시스템
- 지질을 많이 포함하는 미세조류 선정 및 배양
- 미세조류의 성장 조건 최적화

광생물반응기는 미세조류 배양시 넓은 광조사 면적과 우수한 바이오매스의 생산성을 위해 평판형으로 모델링하였다. 미세조류는 지질 함량이 풍부하고 성장속도가 빠른 *Chlorella*를 선정하여 배양하였고 온도와 pH, CO₂ 및 빛의 세기 조절 그리고 광생물반응기의 구조를 변화시켜 성장 조건을 최적화 하였다.

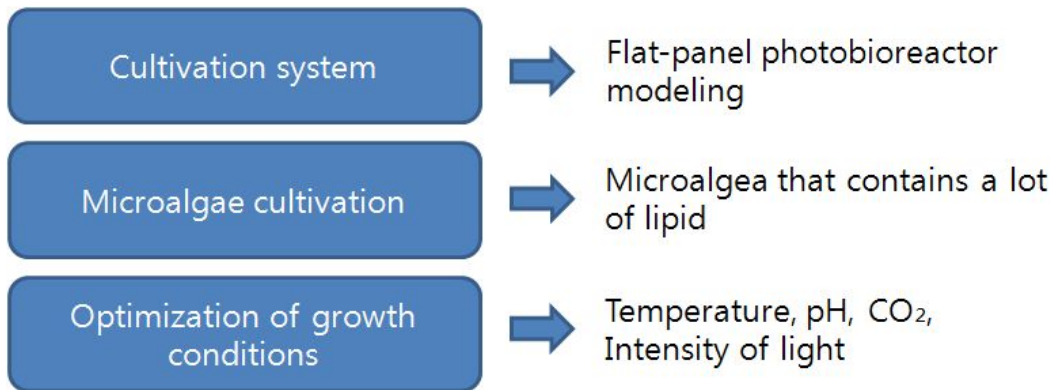


Fig. 3 Contents of study

제 2 장 미세조류

제 1 절 미세조류의 일반적 특성

조류(Algae)는 육상식물을 제외한 모든 광합성 생물의 통칭이며 현미경으로만 관찰할 수 있는 단세포성 조류를 미세조류라고 한다. 미세조류는 전 세계적으로 약 25,000여 종이 존재한다고 알려져 있으며 대다수는 녹조류나 남조류로 수중에서 태양 에너지와 이산화탄소, 무기염류에 의해 성장한다. 우리나라에서는 해양 및 담수에 많이 존재한다. Fig. 4 에 다양한 미세조류의 현미경 관찰 사진을 나타내었다.

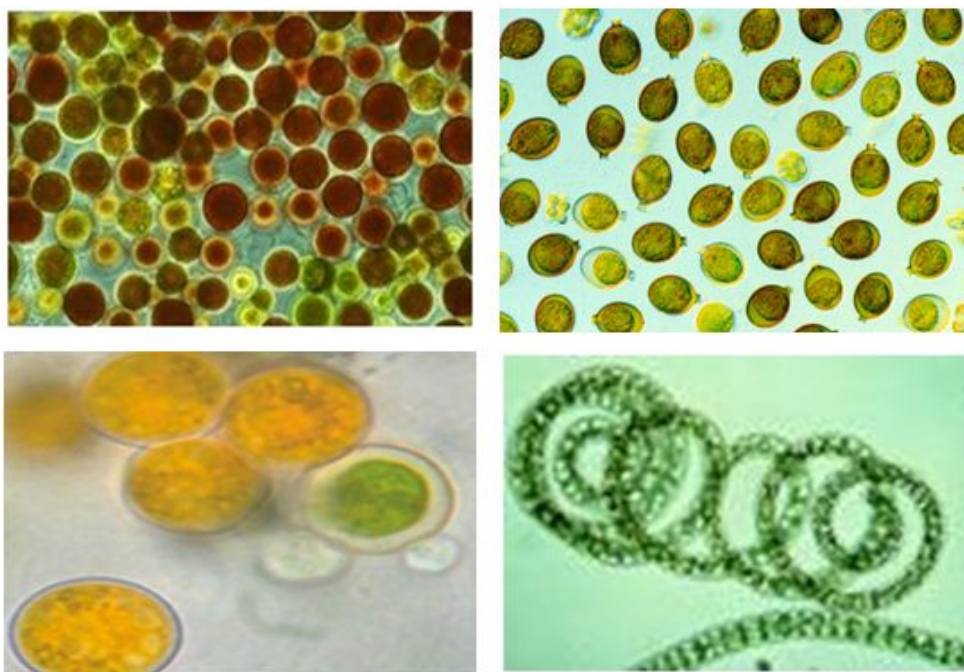


Fig. 4 Various types of microalgae

미세조류는 일반적으로 광합성을 하지만 일반적인 육상식물에 비해 구조가 아주 단순하고, 꽃이나 열매를 맺지 않으며, 성장속도가 빠르다. 그리고 빛이 있는 곳에서 쉽게 배양되며 돌연변이 유발, 유전자 조작에 의한 균주 개량이 비교적 용이하다는 큰 장점이 있다. 미세조류는 고등식물에 비하여 배양장치가 단순하고 차지하는 토지 면적이 작은 유리한 장점을 가지고 있다. 미세조류의 배양을 위해서는 탄소원으로 이용되는 이산화탄소를 적정량으로 공급하는 것이 필수적이며 광합성 효율을 극대화하기 위해서는 광량 및 광도의 조절과 최적화, 온도조절, 혼합 그리고 영양염류의 균형있는 공급 등이 수반되어야 한다^[9].

미세조류는 광합성을 통해 성장하며, 이것은 미세조류를 통한 바이오에너지의 생산에 있어서 가장 큰 장점 중의 하나이다. 광합성을 통한 성장에는 기본적으로 에너지원으로서 빛 에너지, 탄소원으로서 이산화탄소, 물, 그리고 기타 무기영양소 등이 필요하며 배양 온도는 보통 섭씨 20도에서 30도 사이에서 유지되어야 한다. 배양액에는 미세조류를 구성하는데 필요한 질소나 인 등의 무기 영양소가 들어있다. 미세조류는 광합성 미생물이므로 따로 에너지원과 탄소원을 공급해 줄 필요는 없으나 원활한 성장을 위해 추가로 공급해 주기도 한다. 미세조류의 배양은 간단해 보이지만, 실제로 지질생산을 위한 배양 조건 최적화는 온도, 배양액 구성, 염도, 이산화탄소, pH 등의 많은 변수들에 의해 결정된다. Fig. 5 에 광합성을 하는 미세조류로부터 추출되는 유용한 합성물질을 나타내었다^[10].

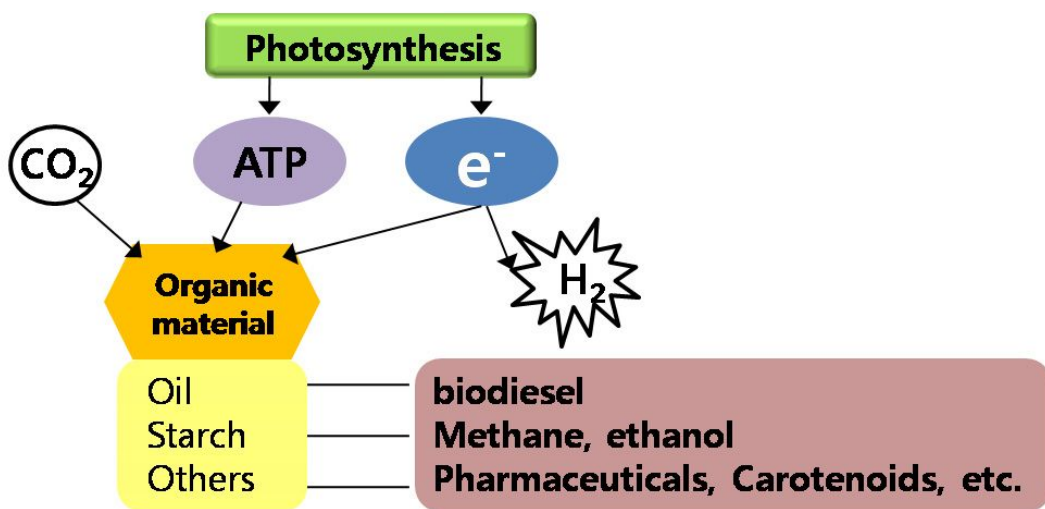


Fig. 5 Microalgae from the synthesis of useful materials by photosynthesis^[10]

광합성을 통하여 지구온난화의 주요한 원인 물질인 이산화탄소 고정화 역할을 함으로써 이산화탄소 저감 효과와 동시에 이 중에 몇몇 종들은 바이오매스의 50%이상을 지방으로 생산할 수 있다. 이 지방의 많은 부분들이 바이오디젤의 원료가 되며, 부산물을 이용하여 식품 및 제약 등의 유용물질들을 생산할 수 있는 중요한 생물자원이다.

제 2 절 *Chlorella*

*Chlorella*는 광합성에 의하여 증식되는 단세포식물로서 민물이나 습지 등에서 흔히 볼 수 있으며, 지름 $10\mu\text{m}$ 이하의 크기로서 한 개의 핵과 엽록체를 가지고 있다. *Chlorella*는 광합성 능력이 뛰어나고 배양이 용이하여 식물의 광합성 연구에 흔히 사용되어 왔다. 특히 *Chlorella*는 담수만으로 탄산가스와 약간의 무기염류를 영양원으로 하면서 태양에너지를 이용하여 광합성으로 증식한다. 적당한 조건에서는 하루에 약 10배나 증가하기 때문에 연간 유기물의 생산량이 벼의 약 8배에 해당할 정도로 빠른 성장속도를 가지고 있다. 또한 배양조건에 따라서 지방은 20~80%, 단백질은 90%까지 함량을 높일 수 있어서, 이를 대량으로 배양하여 식량문제 및 에너지 고갈 문제를 해결하고자 연구되어 왔다. Fig. 6 에 *Chlorella* sp.의 현미경 관찰 사진을 나타내었다.

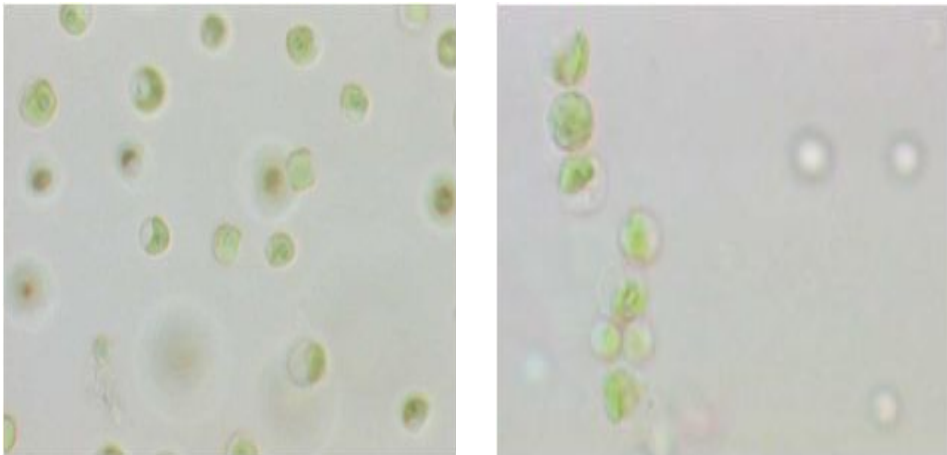


Fig. 6 Microscope view of *Chlorella*

제 3 장 평판형 광생물반응기

제 1 절 평판형 광생물반응기 제작

미세조류를 고농도로 배양하기 위한 광생물반응기 설계에 있어서 중요한 인자는 빛, 기체전달, 배지의 공급이나 효과적인 멸균이 가능하고 구조가 간단하여 쉽게 어느 곳이나 설치가 가능하도록 설계해야 한다. 본 논문에서 설계한 평판형 광생물반응기는 바이오에너지의 생산을 목적으로 대량의 바이오매스를 확보하기 위해 대형화(Scale-up)에 초점을 두었다. 광생물반응기 설계시 표면을 통과하여 광생물반응기 내부로 전달되는 광속(Light flux)의 양을 고려하였다.

광원으로부터 조사된 빛은 Fig. 7 과 같이 광생물반응기 표면에 의하여 반사, 흡수 및 투과 현상이 일어난다. 조사된 빛이 광생물반응기 내부로 많이 전달되기 위해서 투과율이 높은 PC를 광생물반응기 표면 재료로 선정하였다. Table 3 은 평판형 광생물 반응기 제작에 많이 사용되는 플라스틱 재료와 유리의 투과율이다^[16]. 재료의 투과율(Transmissivity)은 식 (1)과 같이 굴절률과 상관관계가 있다^[22]. 식(1)에서 굴절률이 커지면 투과율이 작아지는 것을 알 수 있다.

$$T \approx \left(1 - \left(\frac{n-1}{n+1}\right)^2\right)^2 \tag{1}$$

여기에서,

T : transmissivity

n : refractive index

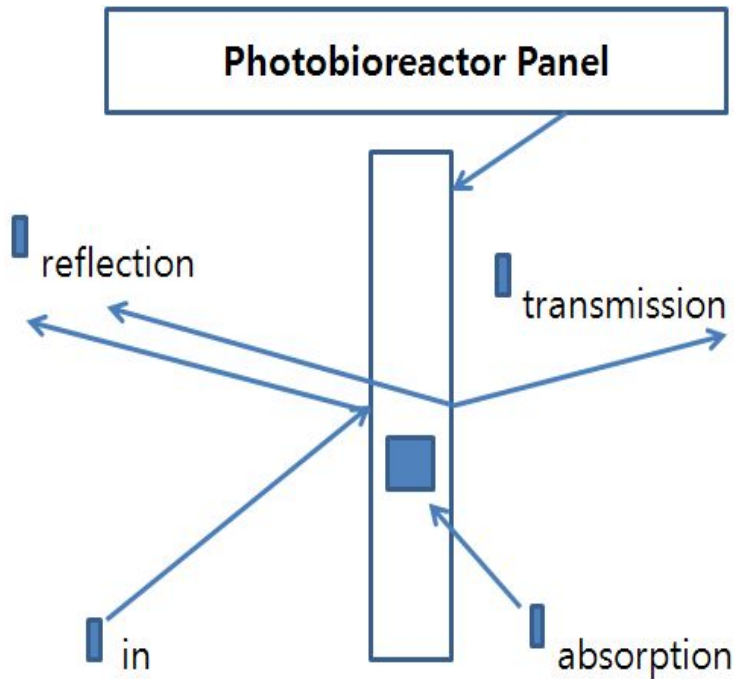


Fig. 7 Illustration for the reflection, absorption and transmission of light in the photobioreactor panel^[16]

Table 3 Transmissivity for different plastic materials^[22]

Material	PMMA	PC	ABS	PS	PVC	Glass
Transmissivity(%)	92-93	85-91	88-90	≅ 89	≅ 84	90-92

PMMA : Poly Methyl Methacrylate

PC : Polycarbonate

PS : Polystyrene

ABS : Acrylonitrile Butadiene Styrene

PVC : Polyvinyl chloride

광생물반응기 내에서 배양되는 미세조류는 침전이 일어나거나 일정 이상의 농도에 서는 빛이 투과되지 않아 고농도 배양에 어려움이 있다. 이러한 점을 극복하고자 공기 부양식 시스템을 적용하였다. 광생물반응기 하단부분에서 튜브를 통하여 CO₂ 가스가 상승하여 와류를 발생시켜 침전됐던 미세조류들이 순환하여 빛의 조사율을 높여 고농도 배양이 가능하게 설계하였다. Fig. 8 은 Solidworks를 이용하여 평판형 광생물반응기를 간략하게 설계하였고, Fig. 9 는 광생물반응기 내부에서 CO₂ 순환을 나타내었다.

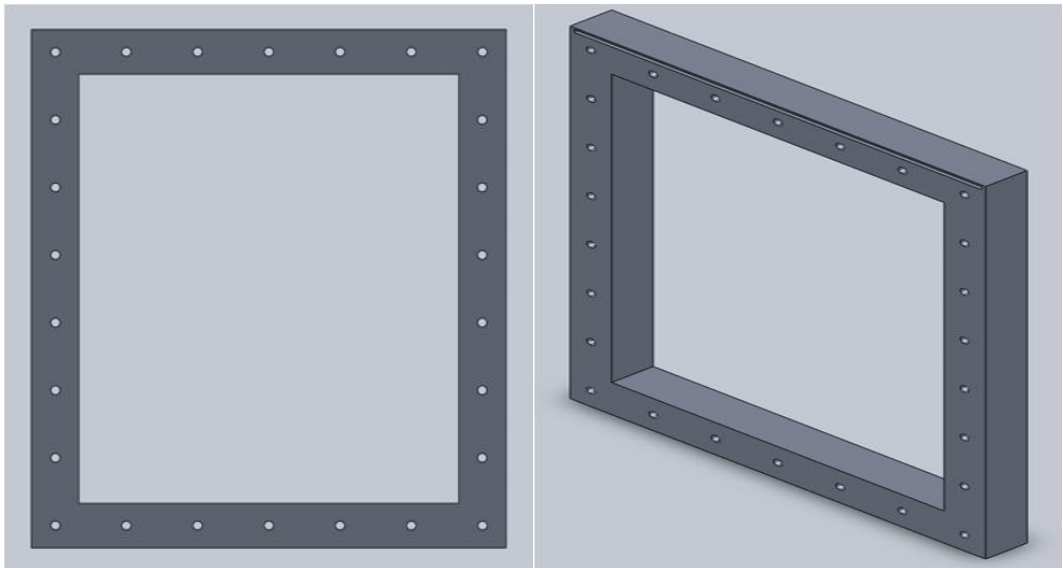


Fig. 8 Solidworks design of flat-panel photobioreactor case



Fig. 9 CO₂ circulation experiment

제 2 절 평판형 광생물반응기에서의 배양시스템

Fig. 10 과 같이 광생물반응기 시스템은 CO₂ 농도, 광원제어, 그리고 미세조류가 빛을 효율적으로 흡수할 수 있게 만드는 교반 시스템 등 다양한 조건들을 고려하여 설계 되어야 한다.

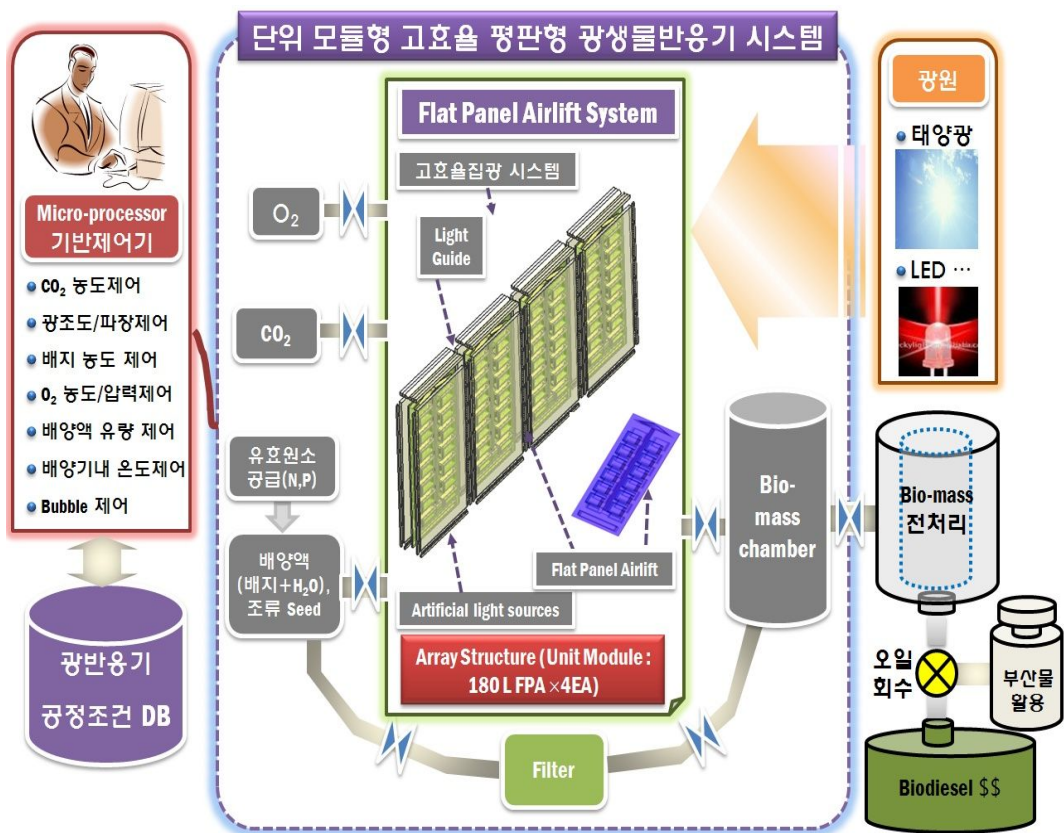


Fig. 10 Flat-panel photobioreactor system

기계적 교반 시스템은 정적, 동적 혼합 시스템으로 나뉘어진다. Fig. 11 에 나타난 바와 같이 정적 혼합에서는 광생물반응기 내부에 헬리컬 정적 혼합기, 바이오 코일, 내격벽 및 블레이드를 부착 및 생성시켜, 유체의 유동 방향, 속도 변경과 난류로의 전이를 유도시켜 미세조류의 효율적 혼합과 성장성을 제어한다.



Fig. 11 Example of static mixer^[15]

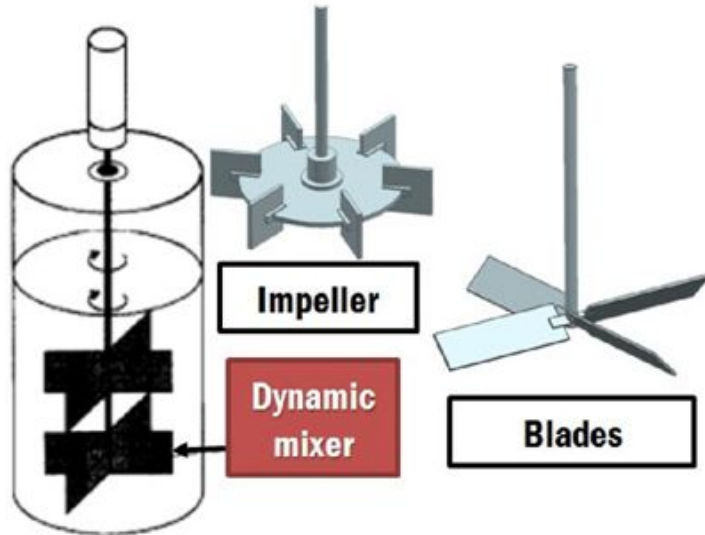


Fig. 12 Examples of dynamic mixers^[16]

동적 혼합 시스템은 Fig. 12 과 같이 광생물반응기 내부에 모터로 구동되는 블레이드, 임펠러 같은 혼합장치를 삽입하고 강제적으로 작동하여 미세조류의 내부 유동을 제어한다.^[16]

본 실험에서 적용한 공기 부양형(Airlift) 교반 시스템은 Fig.13 에 나타낸 바와 같이 광생물반응기 내부로 주입된 공기와 CO₂ 가스에 의하여 미세조류와 배지액이 순환과 회전 가능하도록 설계된 구조이다. 공기 부양형 교반 시스템은 균일한 공기와 CO₂ 가스를 광생물반응기 내부에 공급함으로써 미세조류에 작용하는 전단응력을 감소시키고 미세조류의 순환에 의해 빛에 조사되는 시간이 증가하여 미세조류의 성장률이 증가하게 된다^[16].



Fig. 13 Airlift system

광생물반응기는 사용되는 광원에 따라 태양광을 활용하는 자연 광원, 인공 광원 및 하이브리드 광원을 가진 광생물반응기로 구분할 수 있다. 자연 광원을 활용한 광생물 반응기에서는 태양광을 활용한다. 대부분 태양광이 직접적으로 광생물반응기 케이스 표면에 조사되도록 개발되고 있다. 그러나 광생물반응기 케이스에 조사되는 태양광 조도(Illuminance)를 증가시키기 위하여 Fig. 14 와 같이 광섬유(Optical fiber), 도광판 (Light guide plate) 및 프레넬 렌즈(Fresnel lens)를 케이스 주위에 부착하는 방식에 대한 연구도 진행되고 있다.

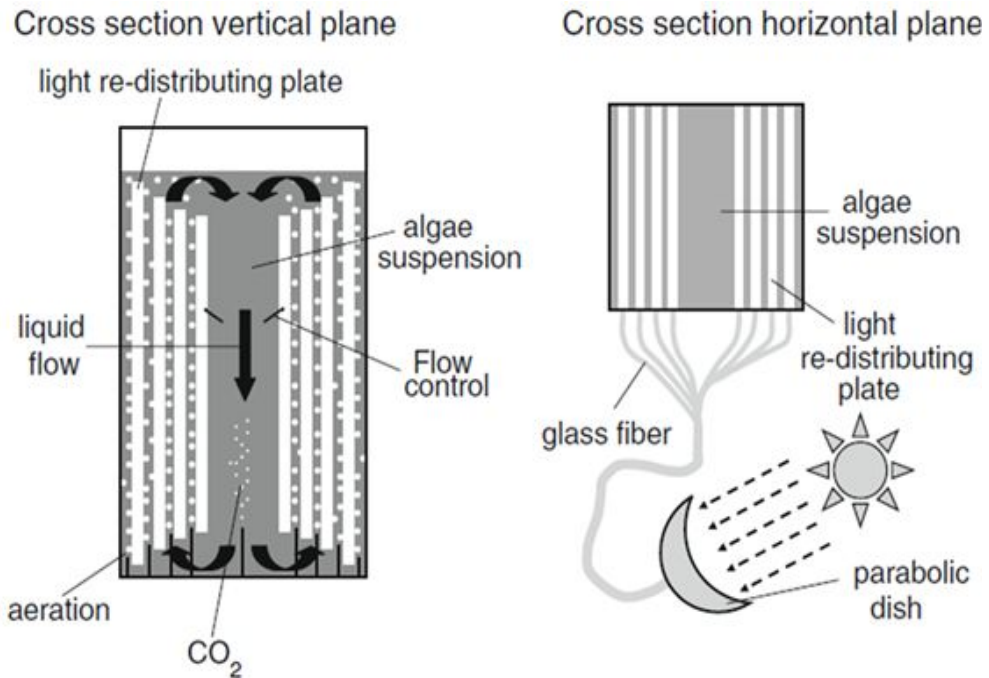


Fig. 14 Design of a rectangular air-lift photobioreactor with light redistributing plates and external light collection^[20]

본 실험에서는 인공광원을 활용한 광생물반응기로 Fig. 15 와 같은 고효율 LED 도광판을 적용하였다. 광생물반응기 단면적당 조사되는 조도가 균일하게 되고, 특정한 파장대의 빛을 집중적으로 조사할 수 있는 장점이 있다.



Fig. 15 LED-panel

제 4 장 평판형 광생물반응기에서의 미세조류 배양

제 1 절 실험 장치 구성

1. 미세조류 선정

바이오디젤 생산을 위한 미세조류 배양에 앞서 배양이 용이하고 지질 함량이 높은 미세조류를 선정해야 한다. 미세조류를 사용하는 바이오 연료 생산 관련 연구는 전 세계적인 친환경 정책의 흐름에 따라 다양한 그룹에서 진행되고 있다. 특히 바이오디젤 생산용 미세조류는 다양한 종으로 개발되어 적용되고 있다^[11-13]. 각 미세조류의 특징을 나타내보면 Table 4 와 같다.

Nannochloropsis sp.는 바이오매스 생산량이 높고 바이오매스 내에도 지질함량이 높아 최근 바이오디젤 생산에 적합한 균주로 각광받고 있다. 하지만 배양조건이 까다로워 연구진행에 어려움을 겪고 있으나 배양조건만 해결이 된다면 충분히 경쟁력을 가질 것으로 판단된다. *Botryococcus* sp.는 현재까지 알려진 미세조류중 지질 함량이 가장 높은 것으로 알려져 있다. 이러한 장점 때문에 초기 연구에서 바이오디젤 생산에 관한 많은 연구가 진행되었으나 세포성장률 및 바이오매스 생산량이 낮아 바이오디젤을 생산하는데 한계가 있다. *Chlorella*는 지질 함량이 *Nannochloropsis* sp.에 비해 상대적으로 낮지만, 성장률이 높고 배양하기 쉬운 장점이 있다. 또한 최근 연구 동향에 따르면 *Chlorella*를 이용하여 바이오디젤을 생산하는 연구가 진행되고 있기 때문에 고효율 광생물반응기를 이용한 미세조류 배양실험에 적합한 균주로 판단된다^[14].

Table 4 Lipid contents and productivities of different microalgae species

Species	Maximum biomass productivity (mg/L/day)	lipid content (%)	Product
Nannochloropsis sp.	1,350	31-68	Biodiesel, Biomass
Chlorella	1,180	28-32	Biomass, Biodiesel
Botryococcus sp.	350	29-75	Biodiesel
Isochrysis galbana	970	25-33	Biodiesel, Biomass
Phaeodactylum tricorutum	830	20-30	Biodiesel, Biomass
Chlamydomonas reinhardtii	90	21	H ₂
Chlorococcu littorale	150	13-28	Carotenoid
Dunaliella salina	800	23-37	Carotenoids

2. 시스템 구성

앞서 선정된 미세조류를 고농도로 배양하기 위해 Fig. 16 와 같이 실험 장치를 구성하였다. 실험에 사용된 반응기는 평판형 광생물반응기로서 공기 부양식 형태로 제작하였으며 15 L의 용량을 가지고 있다.

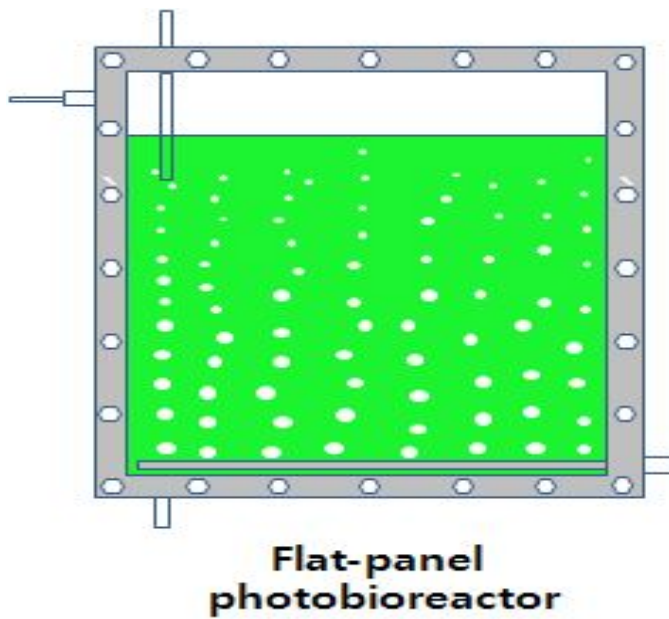


Fig. 16 Schematic diagram of cultivation system

제 2 절 분석 방법

본 논문에서는 분광광도계를 이용하여 680 nm의 파장(wave length)에서 측정하여 성장 정도를 관찰하였다. *Chlorella*의 샘플을 채취하여 680 nm에서 흡광도를 0.1부터 단계적으로 0.5까지 단계별로 맞추어 각각 원심분리 후 상등액을 분리하여 건조시켜 중량을 측정하였다. *Chlorella*의 건조중량(Dry cell weight)과 흡광도(Optical density)의 상관관계식을 Fig. 17 을 이용하여 산출하였다.

$$DCW(g/L) = 0.9524 \times OD_{680nm}$$

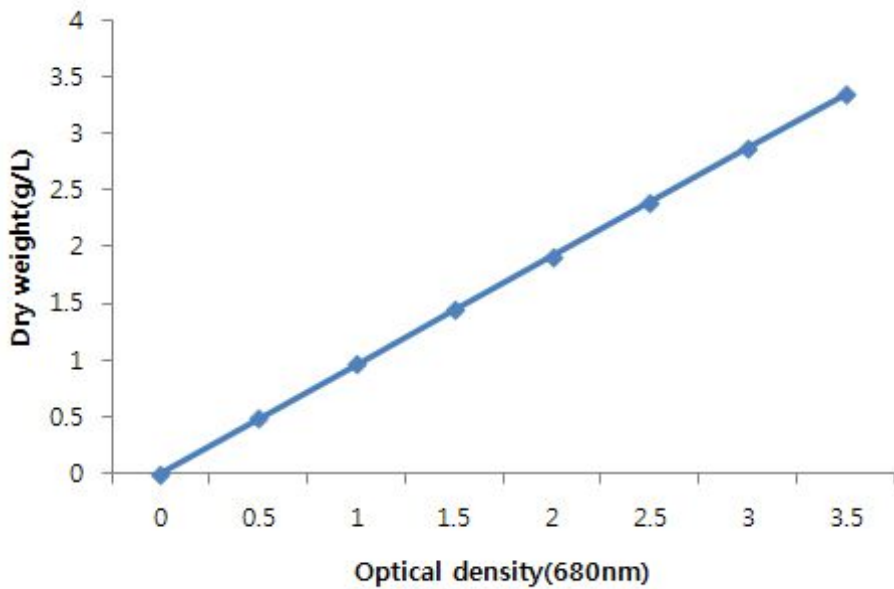


Fig. 17 Calibration curve

제 3 절 *Chlorella* sp. 배양

1. 배지조성

Chlorella 배양에 TAP(Tris-Acetate-Phosphate)-Media를 사용하였다. TAP-media는 질소원으로 NH_4^+ 대신 NO_3^- 를 사용하는 미세조류에 사용된다. 이러한 미세조류는 질산 환원 효소를 감소시켜야 하기 때문에 암모늄으로 질산염을 줄일 수 있도록 한 것이다. TAP-media에 필요한 Stock solution(SL)을 Table 6, 7, 8에 각각 나타내었다^[23-26].

TAP-salt solution은 각각 따로 녹인 뒤 교반 후 최종 용량을 맞추고 멸균시킨다. Phosphate solution은 Stock 완성 후 멸균하고 K_2HPO_4 와 KH_2PO_4 는 냉장 보관하고 필요시 가열하여 녹인다. Trace elements solution은 EDTA를 가열하면서 먼저 녹이고 나머지를 각각 녹인후 교반하여 멸균한다. 처음에는 노란색을 띠다가 시간이 지날수록 보라색을 띄게 된다. 본 실험에서는 많은 양의 배지액을 필요로 하므로 최종적으로 성분첨가 시 TAP-salt solution과 Phosphate solution, Trace elements solution은 농축하여 실험 하였다. Table 9 에는 최종적으로 들어가는 각 stock solution의 첨가량을 나타내었다.

Table 5 TAP-salt solution^[23-26]

Stock Solution(SL)	Volume	Component	Concentration in SL
TAP-salt	25 mL	NH ₄ Cl	15g/L
		MgSO ₄ ·7H ₂ O	4g/L
		CaCl ₂ ·2H ₂ O	2g/L

Table 6 Phosphate solution^[23-26]

Stock Solution(SL)	Volume	Component	Concentration in SL
Phosphate	1 mL	K ₂ HPO ₄	15g/L
		KH ₂ PO ₄	4g/L

Table 7 Trace elements solution^[23-26]

Stock Solution(SL)	Volume	Component	Concentration in SL
Trace element	1 mL	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	500g/L
		ZnSO ₄ ·7H ₂ O	220g/L
		H ₃ BO ₃	114g/L
		MnCl ₂ ·4H ₂ O	50g/L
		FeSO ₄ ·7H ₂ O	50g/L
		CoCl ₂ ·6H ₂ O	16g/L
		CuSO ₄ ·5H ₂ O	16g/L
		(NH ₄) ₆ MoO ₃	11g/L

Table 8 Total stock solution composition

Component	Concentration in SL
200 x TAP-salt	10 mL/L
200 x Phosphate	5 mL/L
100 x Trace element	10 mL/L
Glacial Acetic Acid	1 mL/L
Tris	2.42g/L
Bacto Agar (Solid medium in the manufacture)	15g/L

2. 조건 변화에 따른 배양

가. 광생물반응기 구조 변화에 따른 배양

광생물반응기를 사용한 미세조류 배양에 있어서 물질 전달, 즉 교반 시스템이 고농도 배양을 가능하게 하는 중요한 요인이다. 본 실험에서는 2개의 15 L급 광생물반응기에 내부 구조에 변화를 주어 *Chlorella*의 성장 속도를 비교하였다. Fig. 18 은 내부 구조에 변화를 준 15 L급 광생물반응기를 나타낸 것이다. 광생물반응기 (a)에는 블레이드를 설치하고 (b)에는 설치하지 않았다.



(a)



(b)

Fig. 18 Structural change of 15L flat-panel photobioreactor

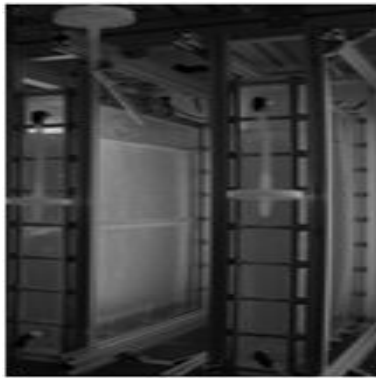
Fig. 19에서와 같이 시간이 지남에 따라서 *Chlorella*의 농도를 확인할 수 있다.



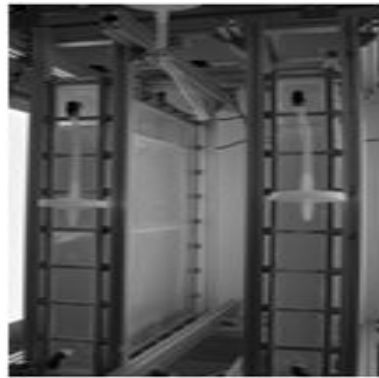
1 day



2 day



4 day



6 day



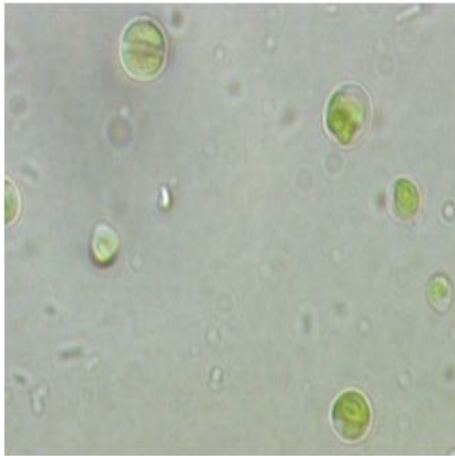
8 day



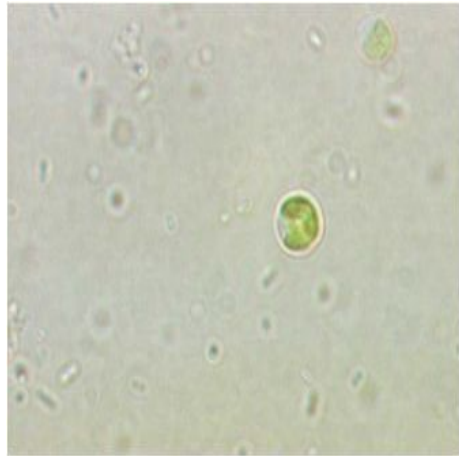
10 day

Fig. 19 Photograph of time varying density of *chlorella*

블레이드를 설치한 광생물반응기(a)에서의 *Chlorella*가 (b) 보다 CO₂ 와 배지액이 활발하게 순환되고 침전 되지 않아 광원을 균일하게 공급받기 때문이라고 판단된다. 그리고 Fig. 20 과 Fig. 21 과 같이 10일간 배양완료 한 *Chlorella*를 채취하여 현미경으로 관찰한 사진을 보면 광생물반응기 (a) *Chlorella*의 개체 수가 더 많은 것을 확인할 수 있었다. Table 10 과 Fig. 22 은 흡광도 값을 나타낸 것이고 건조중량과 성장곡선은 Table 11 과 Fig. 23 에 각각 나타내었다.

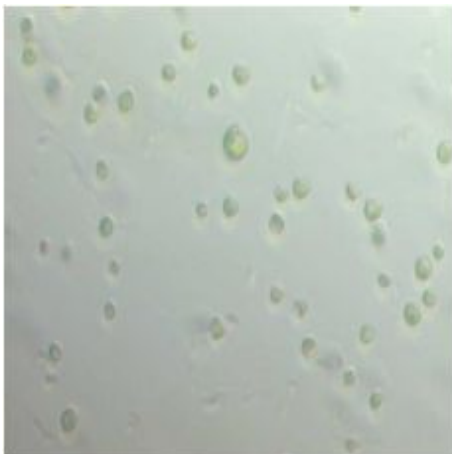


(a)

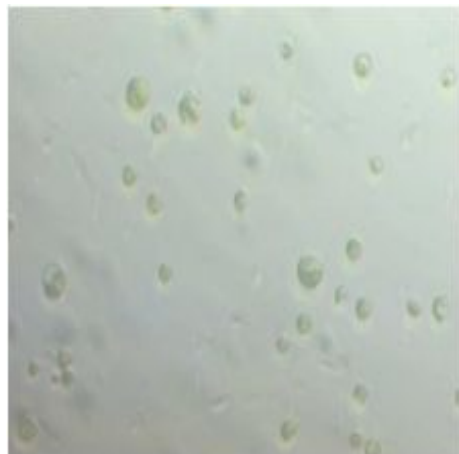


(b)

Fig. 20 Microscope view of *Chlorella*(x1000)



(a)



(b)

Fig. 21 Microscope view of *Chlorella*(x400)

Table 9 Optical Density(680nm) in two types of photobioreactor

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a)	0.308	0.562	0.844	1.233	1.629	2.016	2.362	2.568	2.987	3.256
(b)	0.308	0.424	0.572	0.757	1.001	1.524	1.819	2.164	2.358	2.522

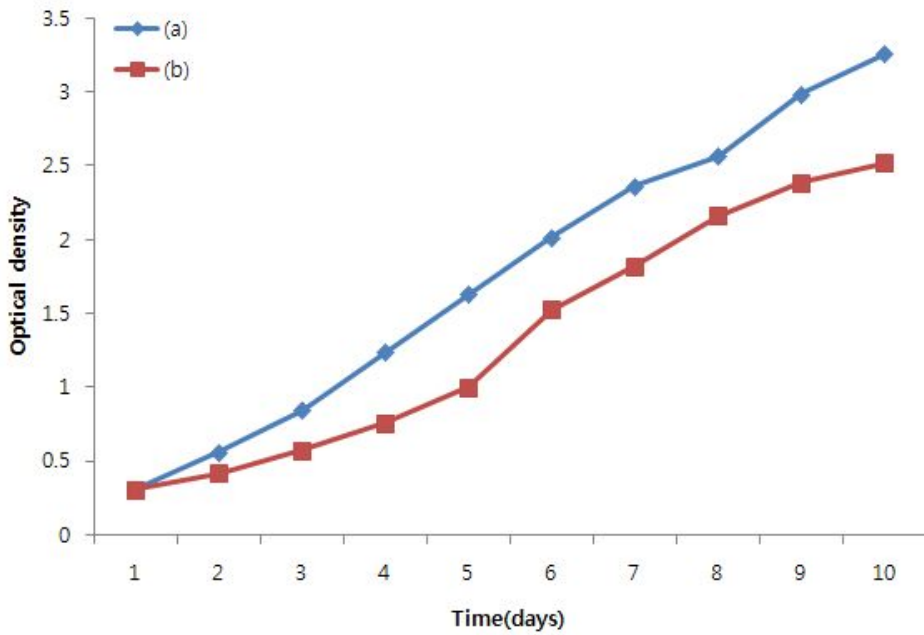


Fig. 22 Optical density according to day

Table 10 Dry weight(g/L) in two types of photobioreactor

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a)	0.306	0.552	0.816	1.187	1.564	1.932	2.262	2.458	2.857	3.113
(b)	0.306	0.416	0.557	0.733	0.965	1.464	1.745	2.073	2.284	2.414

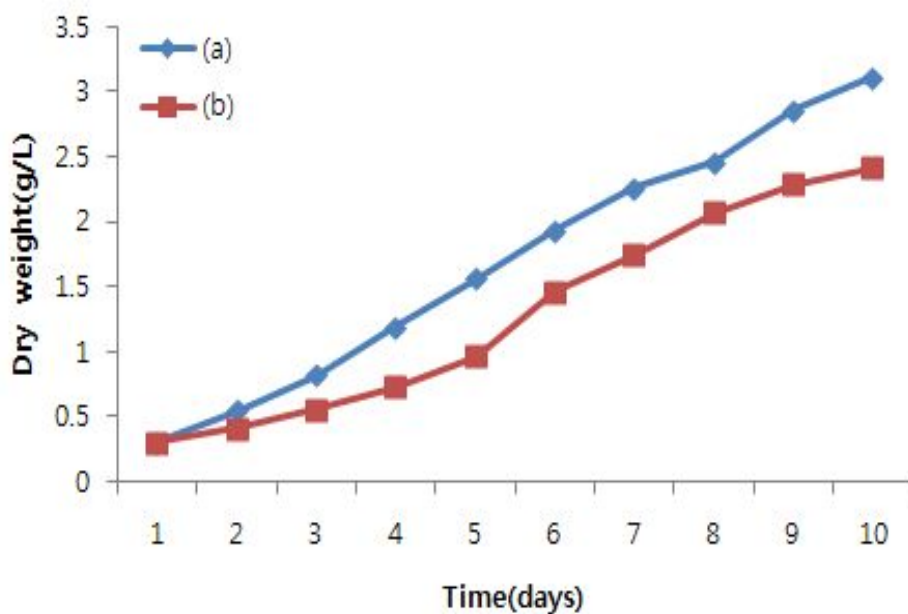
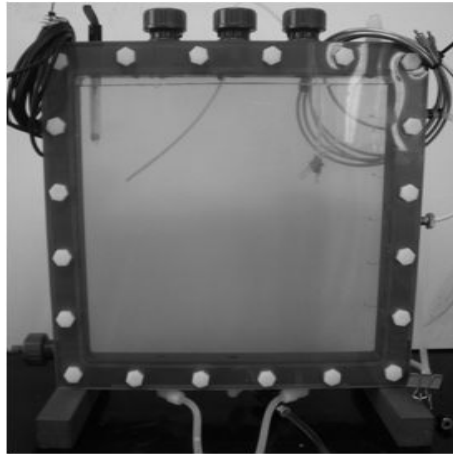


Fig. 23 Growth curve of *Chlorella*

나. 광생물반응기의 용량 변화에 따른 배양

본 실험은 향후 광생물반응기의 대량화 가능성 파악에 대한 실험으로서 평판형 광생물반응기의 용량에 따른 *Chlorella*의 성장 속도에 대하여 실험하였다. Fig. 24 과 같이 5 L, 25 L, 50 L로 평판형 광생물반응기의 용량은 다르고 내부 구조는 동일하다. Table 12 는 세 종류의 광생물반응기를 나타내었다.



(a) 5L



(b) 25L



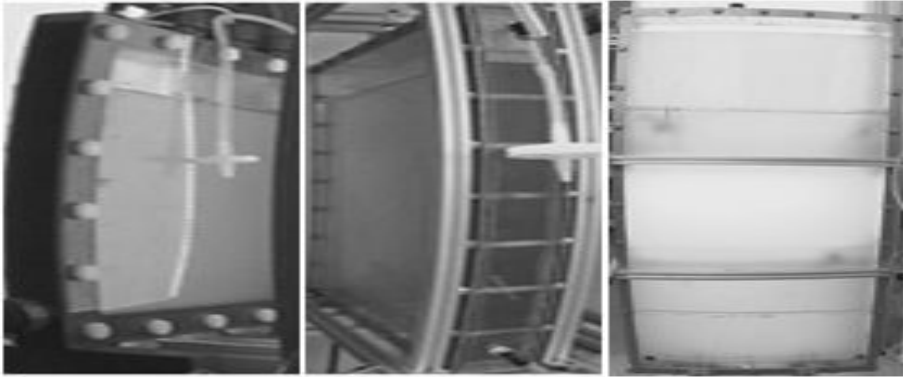
(c) 50L

Fig. 24 Volume of different flat-panel photobioreactors

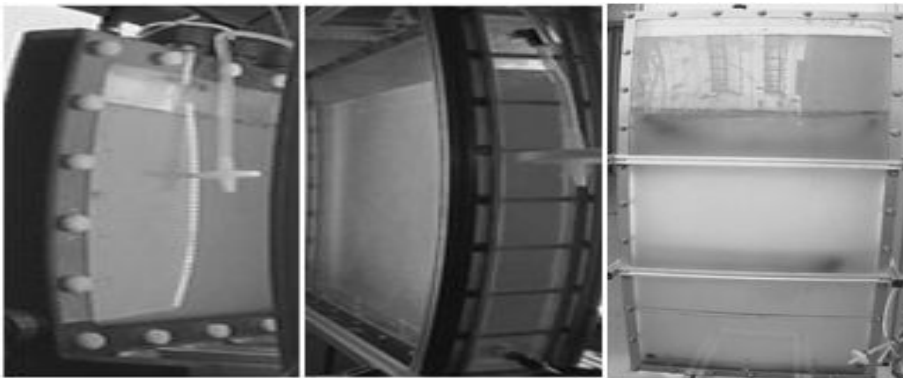
Table 11. Size and S/V ratio of photobioreactors

Reactor	Size	S/V ratio
5L reactor	-	-
25L reactor	-	-
50L reactor	-	-

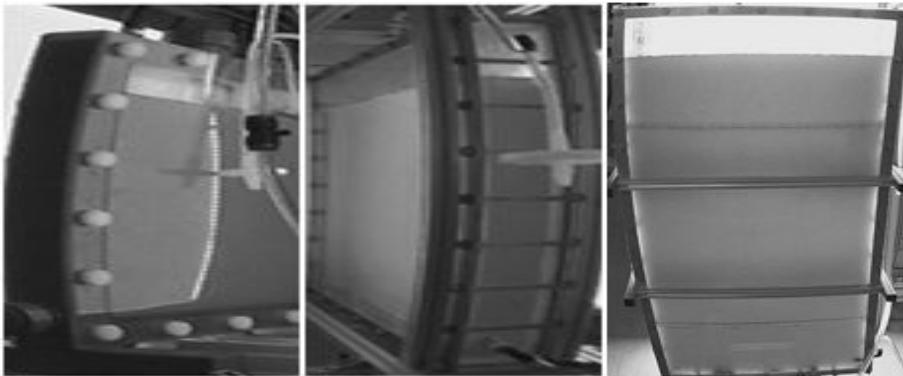
Fig. 25, 26 은 시간이 지남에 따른 각 광생물반응기의 *Chlorella*의 농도 변화를 보여주고 있다. Table 13 과 Fig. 27 은 흡광도를 나타내고 있다.



1 day



2 day



4 day

Fig. 25 Concentration of *Chlorella* at 1-4 days of each photobioreactor



6 day



8 day



10 day

Fig. 26 Concentration of *Chlorella* at 6-10 days of each photobioreactor

Table 12 Optical Density(680nm) of various sizes

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5L	0.203	0.482	0.925	1.313	1.751	2.312	2.778	3.257	3.454	3.784
25L	0.203	0.375	0.662	0.964	1.411	1.974	2.361	2.829	3.203	3.422
50L	0.203	0.322	0.604	0.891	1.482	1.957	2.298	2.712	2.998	3.294

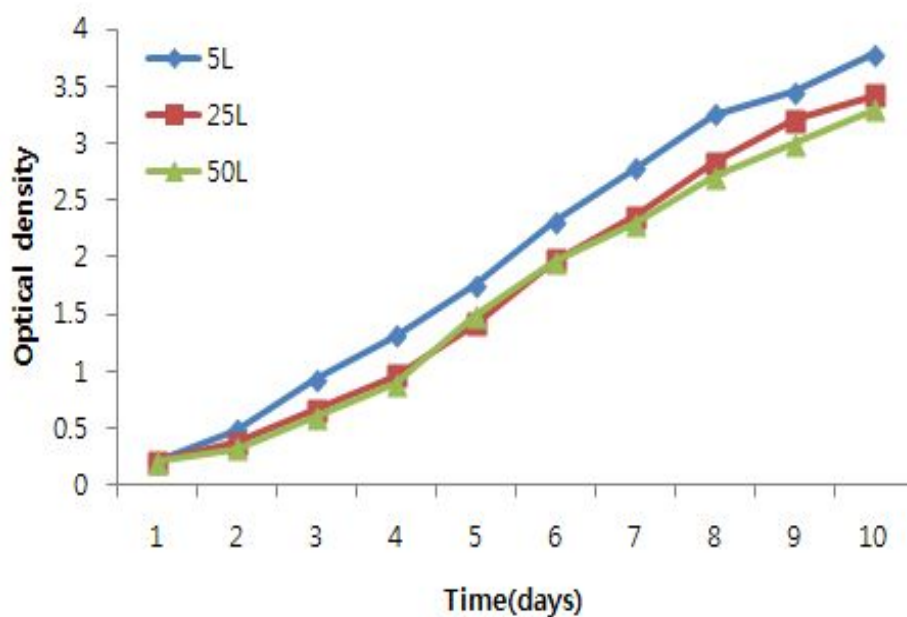


Fig. 27 Optical density according to day

Table 13 Dry weight(g/L) of various sizes

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5L	0.206	0.471	0.893	1.263	1.680	2.214	2.658	3.114	3.302	3.616
25L	0.206	0.369	0.643	0.931	1.356	1.892	2.261	2.707	3.063	3.272
50L	0.206	0.319	0.588	0.861	1.424	1.876	2.201	2.595	2.868	3.151

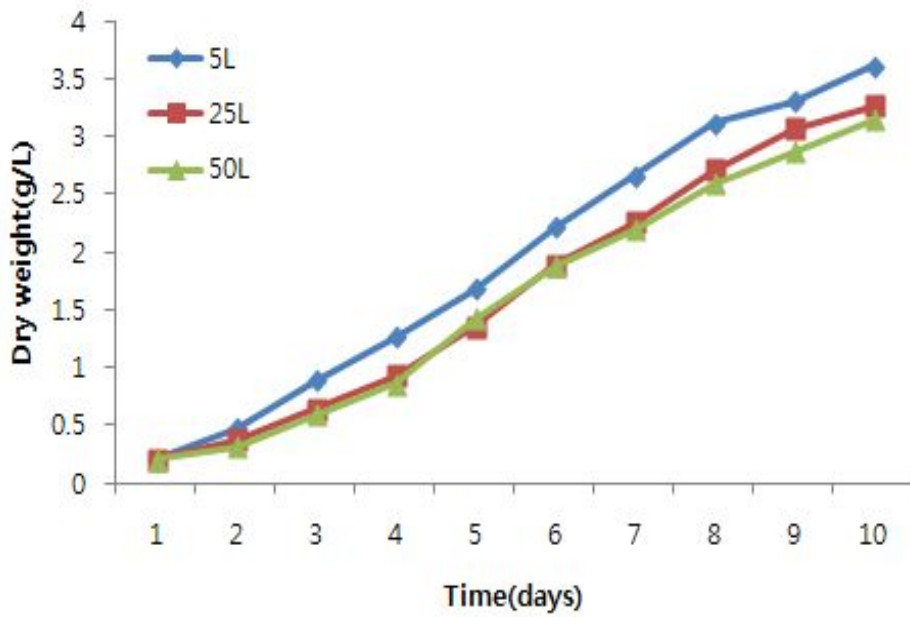
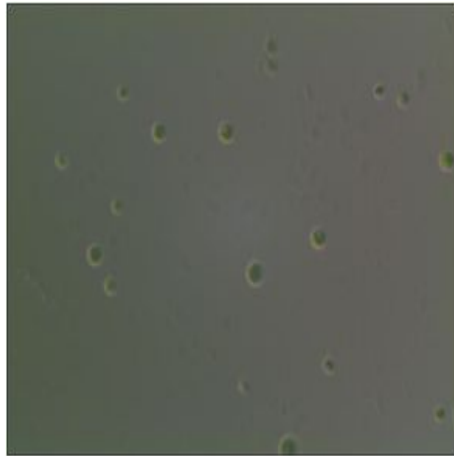
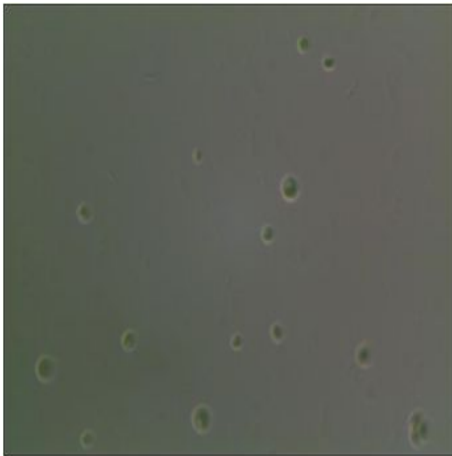


Fig. 28 Growth curve of *Chlorella*

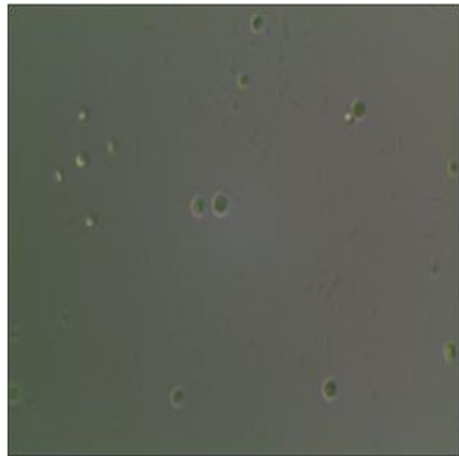
Table 14 와 Fig. 28 에 나타난바와 같이 광생물반응기의 용량이 작을수록 빠른 성장 속도를 보인다. 광생물반응기 내 *Chlorella*의 농도가 높아지면서 투과되는 빛이 차단되어 광생물반응기의 두께가 두꺼울수록 *Chlorella*의 성장이 더딘 것으로 판단된다. 하지만 Fig. 29 과 Table 15에서 보는바와 같이 그 차이가 미미하여 오히려 큰 용량의 광생물반응기에서의 바이오매스 생산량은 더 높을 것으로 예상된다.



5L



25L



50L

Fig. 29 Microscope view of *Chlorella*(x400)

Table 14. Biomass production per unit volume

Reactor	Production(g/L/day)
5L	0.362
25L	0.327
50L	0.315

제 5 장 결 론

1. 연구 결과

본 연구는 미세조류 배양을 위한 평판형 광생물반응기에서의 성장조건 최적화에 관하여 연구하였다. 평판형 광생물반응기를 설계 제작하였고, 지질이 풍부한 미세조류를 선정하여 최적화된 성장 조건을 파악하였다.

가. 평판형 광생물반응기 설계

광합성 미세조류인 *Chlorella*의 고농도 배양을 위해 설치가 편하고 빛을 받는 면적이 큰 평판형 광생물반응기를 설계 제작하였다. 투명 재질을 사용하여 빛 흡수를 용이하게 하였고 공기 부양식 시스템을 적용하여 농도가 짙어짐에 따라 빛에 조사되는 시간이 감소하고 침체되어 성장이 느린 단점을 보완하였다.

나. 광생물반응기의 구조 변화가 미치는 영향

광생물반응기 내부 구조에 따른 성장속도를 파악하기 위해 정적 교반 시스템인 블레이드를 설치한 반응기와 설치하지 않은 반응기에서의 *Chlorella* 성장 속도 분석결과 블레이드를 설치한 *Chlorella*가 더 빠른 성장 속도를 보였다. 따라서 *Chlorella*의 고농도 배양을 위한 광생물반응기의 최적화된 구조는 공기 부양시스템과 정적 교반시스템을 적용해야 한다는 것을 파악하였다.

다. 광생물반응기의 용량 변화가 미치는 영향

광생물반응기 용량 변화에 따른 *Chlorella*의 성장 속도를 알아본 결과 용량이 작을수록 성장이 빠른 것으로 보아 S/V 비가 높을수록 성장이 빠르다는 것으로 판단된다.

즉 용량이 작고 두께가 얇아 일정 농도에 이르더라도 빛의 흡수가 더 균일하기 때문이다. 하지만 그 차이가 미미하여 대량생산(Scale-up)시 바이오매스 생산량은 오히려 용량이 큰 광생물반응기가 더 용이할 것이라고 판단된다.

2. 향후 연구 방향

본 논문에서는 실험실 단위의 최대 50L의 평판형 광생물반응기에서의 *Chlorella*의 성장 조건에 대하여 연구 하였다. 향후에는 지질함량이 풍부하고 비교적 배양이 쉬운 여러 종의 미세조류를 찾아 최적화된 성장조건을 연구해야 할 것이다. 또한 그 연구를 토대로 평판형 광생물반응기의 대형화 설계 및 배양 그리고 지질추출에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Richard Heinberg, "peak oil and options for a post carbon world", www.grinningplanet.com/2005/06-14/peak-oil-article.htm
2. Chisti, Y., "iodiesel from Microalgae," *Biotechnology Advances*, Vol. 25, No. 3, pp.294-306, 2007.
3. Becker, E. W., "'Microalgae: Biotechnology and Microbiology by E.W.Becker,'" Cambridge University Press, pp. 63-171, 1994.
4. I. Karube, T. Takeuchi, and D. J. Barnes, *Adv. Biochem. Eng.. Biotechnol.*, 46, 63, 1992.
5. Contreras, A., Garcia, F., Molina, E. and Merchuk, J.C., "nteraction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of phaeodactylum tricornutum in a concentric tube airlift photobioreactor,"*Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 60, No. 3, pp. 317-325, 1998.
6. Tredic, M. R. and Zittelli, G. C., "fficiency ofSunlight Utilization: Tubular Versus Flat Photobioreactors,"*Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 57, No. 2, pp. 187-197, 1998.
7. Qiang, H. and Richmond, A., "roductivity and photosynthetic efficiency of spirulina platensis as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate Photobioreactor,"*J. Applied Phycology*, Vol. 8, No. 2, pp. 139-45, 1996.
8. El-Shishtawy, R. M. A., Kawasaki, S. and Morimoto, M., "ylindrical-4Type Induced and Diffused photobioreactor. A Novel Photoreactor for Large- Scale H₂ Production: in Zaborsky, O. R. (Ed.), *Biohydrogen*,"Plenum Press, pp. 353-358, 1998.
9. Oh, H. M., *News & Information for Chemical Engineers*, Vol.29, No.3, 355-360, 2011
10. Schenk, P. M., S. R. Thomas-Hall, E. Stephens, U. C. Marx, J. H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse, and B. Hankamer (2008) Second generation biofuels: highefficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenerg.Res.* 1: 20-43, 2008.
11. Liu, Z. Y., Wang, G. G. and Zhou, B. C., "'Effect of iron on growth and lipid accumulation in Chlorella vulgaris,'" *Bioresource Technology*, Vol. 99, No. 11,pp. 4717-4722, 2008.
12. Jeon, S. M., Kim, I. H, Ha, J. M. and Lee, J. H., "'Overview of Technology

- for Fixation of carbon Dioxide Using Microalgae,” J. Korean Ind. Eng. Chem., Vol. 19, No. 2, pp. 145-150, 2008.
13. Becker, E. W., “Microalgae: Biotechnology and Microbiology by E.W.Becker,” Cambridge University Press, pp. 63-171, 1994.
 14. Kim, J. T., Ahn, D. G., Park, J. R., Park, J. W., Jeong, S. H., “Recent Trends of the Development of Photobioreactors to Cultivate Microalgae” Journal of the Korean Society for Precision Engineering Vol. 28, No. 2, pp. 125-132, 2011.
 15. Sastre, R. R., Csogor, Z., Perner-Nochta, I., Fleck Schneider, P. and Posten, C., “Scale-down of Microalgae Cultivations in Tubular Photobioreactor A Conceptual Approach,” Journal of Biotechnology, Vol. 132, No. 2, pp. 127-133, 2007.
 16. Ahn, D. G., Cho, C. G., Jeong, S. H., Lee, D. G., “Design of Photobioreactor for Mass Production of Microalgae”, Journal of the Korean Society for Precision Engineering Vol. 28, No. 2, pp. 140-153, 2011.
 17. Pulz, O., Gerbsch, N. and Buchholz, R., “Light Energy Supply in Plate-type and Light Diffusing Optical Fiber Bioreactors,” Journal of Applied Phycology, Vol. 7, No. 2, pp. 145-149, 1995
 18. An, J. Y. and Kim, B. W., “Biological Desulfurization in an Optical-fiber Photobioreactor Using an Automatic Sunlight Collection System,” Journal of Biotechnology, Vol. 80, No. 1, pp. 35-44, 2000.
 19. Gordon, J. M., “Tailoring Optical Systems to Optimized Photobioreactors,” International Journal of Hydrogen Energy, Vol. 27, No. 11-12, pp. 1175-1184, 2002.
 20. Zijffers, J. F., Jassen, M., Tramper, J. and Wijffels, R. H., “Design Process of an Area-Efficient Photobioreactor,” Marine Biotechnology, Vol. 10, No. 4, pp. 404-415, 2008.
 21. Ono, E. and Cuello, J. L., “Design Parameters of Solar Concentrating Systems for CO₂-mitigating Algal Photobioreactors,” Energy, Vol. 29, No. 9-10, pp. 1651-1657, 2004.
 22. Fowles, G. R., “Introduction to Modern Optics,” Dover Publications Inc., pp. 40-47, 1989.
 23. Andersen, R. A. (ed.), “Algal culturing techniques”, Elsevier academic press, London, pp. 578, 2005
 24. Gorman, D. S., Levine, R. P., “Cytochrome f and plastocyanin : their sequence in the photosynthetic electron transport chain of chlamydomonas

- reinhardii", Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 54:1665-1669, 1965.
25. Harris, E. H., "The chlamydomonas sourcebook : a comprehensive guide to biology and laboratory use", Academic press, San diego, pp. 780, 1989.
 26. Sueoka, N., "Mitotic replication of deoxyribonucleic acid and in chlamydomonas reinhardi", Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 46(1) : 83-91, 1960.
 27. Yusuf, Chisti., "Biodiesel from microalgae", Biotechnol. Adv. 25: 294-306, 2007.
 28. Greenhouse Issues (December 2005) Number 80, Raceway Ponds for Microalgae Production (Earthrise Farms, California, USA), 2005.
 29. <http://www.algainenergy.com/en/content/air-lift-photobioreactors>
 30. Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances", 25: 294 - 306, 2007.