



수직형 고효율 광배양기를 통한 미세조류 *Nannochloropsis sp.*의 생장성 연구

김영남*, 정명희, 김은주, Vita Karnadi, 김영준**†
(주)아이엠비즈*, 가톨릭대학교 생명환경공학부 환경공학전공
(2015년 3월 9일 접수, 2015년 3월 20일 수정, 2015년 3월 24일 채택)

Study on the Productivity of Microalgae *Nannochloropsis sp.* Using the Highly Efficient Vertical Photobioreactor

Young-Nam Kim*, Myung-Hee Chung, Eun-Joo Kim, Vita Karnadi, Young-Jun Kim**†
IMBiz Co., Ltd*, School of Biotechnology and Environmental Engineering, The Catholic University,
Bucheon, Korea

ABSTRACT

We have investigated the productivity of microalgae, *Nannochloropsis sp.*, using highly efficient vertical photobioreactor which has been developed by the company IMBiz. This experiment was performed in the field for one month with 2 sets of 2 tons of media under autotrophic cultural mode. In the culture with 0.1% of CO₂, the average daily productivity was shown to be up to 0.953g per liter, and 0.574g per liter in the culture with only ambient air. The temperature ranged from 20°C to 31°C, and it didn't make any differences on the productivity. The light intensity ranged from 5,000 Lux to 40,000 Lux. The light has been appeared to have a very close relationship with the productivity of microalgae. Meanwhile, the harvesting method of pressure-floating attempted in this photobioreactor was found to be very effective.

Keywords : Microalgae, Photobioreactor, Biodiesel, *Nannochloropsis sp.* Fishery Feed,

초 록

본 연구에서는 저온 해양성 미세조류인 *Nannochloropsis sp.*를 대상으로 (주)아이엠비즈에서 개발한 수직형 고효율 광배양기를 통한 생산성 평가를 목적으로 2톤의 배양액으로 자가영양의 옥외생장실험을 진행하였다. 한달간 진행된 실험에서, 0.1%의 CO₂를 주입한 배양에서는 일평균 0.953g/L의 생산성을 나타

† Corresponding author (yjunkim@catholic.ac.kr)

냈으며, 공기만을 주입했을 경우에는 0.574g/L의 생산성을 나타냈다. 온도의 분포는 최저 20℃에서 최고 31℃에 이르렀으며, 이 범위에서 온도에 따른 생산성의 변화는 크게 차이가 없는 것으로 나타났다. 빛의 세기는 최저 5,000럭스에서 최고 4만 럭스 내외로 조사되었으며, 빛의 세기와 미세조류의 성장사이에 매우 밀접한 관련이 있는 것으로 밝혀졌다. 한편, 본 실험에서 시도된 개발된 배양기를 통한 가압부상에 의한 조류의 수확방법은 효과가 매우 높은 것으로 나타났다.

핵심용어 : 미세조류, 광배양기, 바이오디젤, *Nannochloropsis sp.*, 양어장사료,

1. 서론

근래에 지구환경은 화석연료의 남용으로 인하여 에너지 고갈과 더불어 온실가스의 과대방출로 인한 지구온난화 영향으로 큰 위기에 봉착해 있는 것은 주지의 사실이다. 이에 탄소방출을 감소하고 오일의 사용량을 줄이기 위하여 생물유래의 바이오에너지가 바람직한 대체에너지로 주목을 받고 있다. 탄소중립의 재생 바이오연료는 머지않은 미래에 기존의 화석연료인 수송용 연료를 대체해야 할 강력한 필요성이 있다 하겠다.

바이오연료는 다른 재생에너지와 비교하여 저장 및 가능할 뿐더러 기존의 차량엔진에 직접 사용이 가능하고 기존 디젤연료와도 혼합하여 사용할 수 있으며, 또한 독성이 없는 생분해성 물질로 각광을 받고 있다.

현재 대부분의 바이오디젤은 팜오일 또는 유채 등의 오일함유 식물로부터 생성해 왔다. 그러나 이러한 식물유래 바이오디젤은 지속가능성의 문제를 야기하고 있다. 가령 유채로부터 10억톤의 바이오디젤을 얻기 위해서는 한반도의 면적에 해당하는 토지를 필요로 한다. 또한 이를 가공하는 과정에서 총 생산가능한 에너지의 반 이상이 소비되고 있다. 이러한 문제들이 바로 최근 미세조류로부터 바이오디젤을 생산하는 연구 및 개발에 주목을 하게 되는 이유가 되고 있다.¹⁾

미세조류를 이용하는 데는 많은 장점이 있다. 이들은 일반 식물과 비교하여 매우 높은 생산성을 보

여주고 있다. 미세조류의 성장률은 빠른 것은 매 3시간 반마다 분열하여 배를 이룬다.

미세조류는 디젤의 원료가 되는 지방산의 함유량이 20% - 50% 가량 분포되어 바이오디젤의 생산에 적합하며, 이산화탄소 외에 암모니아와 질산염, 인산염 등의 오염물질을 제거하여 폐수처리에 이용도 가능하다. 또한, 배양된 미세조류에서는 바이오디젤 뿐 아니라 항산화제 등의 유용한 천연물질 생산도 가능하여 각종 석유화학제품의 대안으로 떠오르고 있으며 이들을 추출한 후, 부산물은 사료 또는 퇴비로도 활용이 가능하여 다양한 목적에서 매우 유용한 원료로 주목을 받고 있는 것이다.^{2),3)}

한편, 미세조류를 이용한 바이오디젤의 추출과정은 여러 기술적 난제들도 내포하고 있는데, 전체 공정에서 미세조류의 배양과 관련한 공정이 전체 비용의 50% 이상을 차지하고 있으며, 이후 적절한 수확, 응집, 추출 등의 과정이 뒤따르고 있다. 결국, 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 상용화하기 위해서는 이러한 공정과정에 소요되는 비용을 획기적으로 줄일 수 있는 기술개발이 매우 시급하다 할 것이다.⁴⁾

본 연구에서는 최근 (주)아이엠비즈가 개발 완료한 미세조류 초고밀도 광배양기에 대한 평가를 위하여 바이오디젤 뿐 아니라, 고가의 양식장 사료로서 활용되고 있는 해양 미세조류인 *Nannochloropsis sp.*를 대상으로 옥외배양을 통하여 배양 및 응집효율에 대한 생산성실험을 진행하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 균주의 배양 및 보관

본 실험에 이용된 균주는 한국해양 미세조류은행에서 분양받은 *Nannochloropsis sp.* (KMMCC-290)로서 균주의 배양은 conway배지를 사용하였다.⁵⁾ 분양받은 균주는 25℃의 배양조건에서 액체 및 고체 배양하여 균주를 보관 또는 접종균주로 사용하였다.

2.2 옥외배양 실험장치

옥외배양실험을 위한 실험장치는 기본적으로 배양기와 공기압축기, 이산화탄소 주입기, 배양액혼합기 및 배양액수확기로 구성되어 있다[Fig 1]. 배양기는 특수 폴리카보네이트로 제작된 길이 4,000mm, 직경 140mm의 투명관을 한 Line에 20조씩 연결하여 두 Line을 배치하고 이산화염소로 멸균한 해수 2,000L를 주입하였다. 각 Line의 접종배양액은 총 배양액의 1/10인 200L로써 ml당 5,000만 균주의 농도로 접종하였다. 접종 후 8시간이 경과한 후, 살균 처리한 우뇨(Cow's urine)를 0.5%의 농도로 주입하여 연속 배양하였다. 한 Line은 대기중의 공기를 (0.03%의 이산화탄소 포함) 공기압축기를 통하여 공급하였으며, 다른 Line에는 액화된 이산화탄소 0.1%를 혼합하여 주입하였다.

접종된 배양액은 접종후 초기 5일간은 공기압축기의 밸브를 조절하여 배양액이 각 배양관을 연결한 상부의 PVC관에 도달하지 않도록 최적화된 상태로 배양 한 후, 6일째에 접어들어 배양기내 성숙한 미세조류들이 부상할 수 있도록 공기압축기의 밸브를 완전히 개방하여 미세조류를 부상시켰으며, 상부에 연결된 PVC관을 통하여 배양액의 5%인 100L를 배출시켜 수확하였다. 이후, 각 Line에서 방출된 배지와 동일한 양인 100L의 새로운 배지를 보충하여 매 24시간마다 이를 반복하며 30일간 연속적으로 배양기를 가동하였다.

2.3 세포의 수확 및 계량

고농도로 수확한 100L의 배양액은 폴리머응집제 (산화알루미늄)를 이용하여 응집하였으며, 약 4시간 경과후 응집된 미세조류는 상등액을 제거한 후 담수를 이용하여 2회에 걸쳐 탈염과정을 수행하였다. 탈염된 미세조류는 건조기(Oven dryer)를 이용해 수분함량 4%이하로 건조시킨 후 총 건조중량을 구하여 균체량을 결정하였다.

2.4 균수 및 건조량 측정

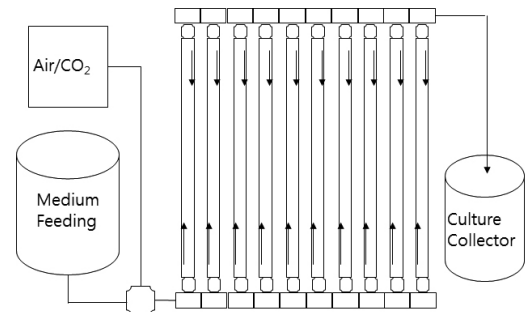
각 배양액으로부터 채취한 시료는 적당량을 희석한 후 혈구계수기(hemocytometer)를 이용하여 균수를 측정하였으며, 측정된 균수는 총 건조중량으로 나누어 균주당 건조중량을 결정하였다.

2.5 조도의 측정

600Lux~300,000Lux를 측정할 수 있는 휴대용 조도계(Lux meter)를 이용하여 조도를 측정하였으며 단위는 Lux로 나타내었다.

3. 결과

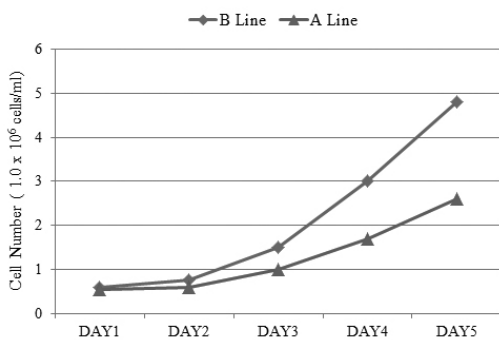
3.1 수직형 광배양기를 통한 *Nannochloropsis sp.*의 회분식 배양 및 수확



[Fig 1] The schematic diagram of vertical photobioreactor for the culture of *Nannochloropsis sp.*

본 배양기는 길이 4,000mm, 직경 140mm의 특수제작된 폴리카보네이트 계열의 투명관을 수직으로 일렬 배치하여 태양광 및 이산화탄소를 에너지 및 탄소원으로 자가영양을 실행하였다. 최초 배양액 접종시의 총 세균수는 1 mL 당 대략 5.0×10^7 cells로 총 배양액인 2,000L의 1/10인 200L를 접종하였다. 접종후 8시간이 경과한 후, 질소 및 기타 무기영양원으로 우뇨 (Cow's urine)를 0.5% 첨가하였으며, 이후 상부로 배양액이 넘치지 않을 정도의 적당한 압력을 이용하여 약 5일간 폭기시키며, 6일째부터 첫 수확을 시작하였다.

무기영양원 첨가전 세균의 숫자는 공기만을 주입한 Line (A line)과 0.1%의 탄소를 혼합주입한 Line (B line)의 경우 각각, $0.55 - 0.60 \times 10^7$ cells로 나타나 초기 적당한 희석률을 반영하고 있었으며, 접종 2일째부터 수확하기 전까지 양쪽 Line 모두에서 매일 2배가량의 세포수가 증가하여 수확 1일전인 접종 5일째 접어들어서는 각각 2.6×10^7 cells 과 4.8×10^7 cells을 보여주었다. 예상한 바와 같이 A line과 비교하여 탄소를 주입한 B line에서 세균의 증가속도가 빠르게 나타나 수확 전 세균의 숫자에서 약 2배가량의 차이가 발생하였다 [Fig 2]



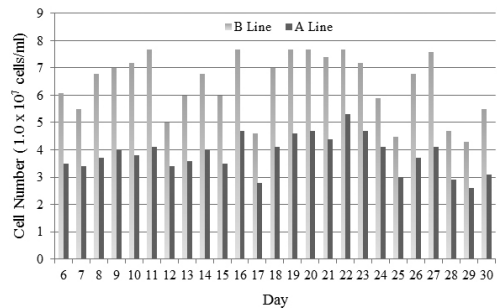
[Fig 2] Batch type growth of *Nannochloropsis sp.* in 2 tons of vertical photobioreactor (vPBR). A line ; ambient air injected, B line ; 0.1% CO₂ injected.

세포의 수확은 접종 6일차부터 시도하였다. 이는 과거의 실험을 통해서 약 120에서 150시간이 경과할 즈음 지수성장기의 정점에 도달하였기에 이 기간을 기점으로 배양액을 추출하기로 결정한 것이다. 따라서, 6일차부터 매 24시간마다 수확을 위하여 배양액을 추출하였으며, 이때 추출된 배양액은 전체 2,000L의 5%인 100L로 결정하였다.

6일차 추출직전 배양기내 세포의 농도는 A line 과 B line에서 각각 1ml당 3.5×10^7 cells 과 6.1×10^7 cells로 나타났으며, 미세조류의 부상을 위하여 공기압축기를 완전 개방시킨후 상층부로 가압부상된 미세조류 배양액 100L를 취하여 세포의 농도를 조사한 결과 B line에서 1.2×10^9 cells로 계수되어 추출된 배양액에서 약 20배 정도의 세포가 농축된 것으로 나타남에 따라 본 배양기 (vPBR)를 통한 미세조류의 수확이 매우 효과적임을 알 수 있었다.

3.2 연속배양 및 일평균 성장률

최초 접종후 지수성장기의 정점에 들어섰다고 판단되는 6일째부터 100L의 배양액을 추출하고 동일한 양의 새로운 배양액을 첨가하면서 25일간 연속배양을 실시하였다. 추출된 100L의 배양액은 성장한 미세조류만을 배양기에서 부상시켜 얻은 고농도로 농축된 시료였기 때문에 순수한 성장률을 분석하기 위하여 첨가초기 및 추출직전의 배양액



[Fig 3] Cell number of continuously-grown *Nannochloropsis sp.* in vertical photobioreactor (vPBR). A line ; ambient air injected, B line ; 0.1% CO₂ injected.

으로부터 세포수를 측정하였으며, 또한 추출된 미세조류의 세포수 및 건조량을 구하여 세포당 무게를 결정하였고, 이로부터 일평균 세균수 및 성장률 등을 분석하였다[Fig 3 & Table 1].

0.1%의 CO₂가 첨가된 B line의 경우, 추출직전의 1ml당 일평균 균체수는 총 균체수를 25일로 나누어 6.35 x 10⁷ cells/ml의 값을 구하였다.

한편, 배양기내 성장률의 계산은 지수성장기 세포의 성장률에 적용되는 다음의 식을 이용하여 구하였다.

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

위 공식에서 N은 t시간이 경과한 후 세균의 수를 말하며, N₀는 최초 세균의 수를 뜻한다. 소문자 n은 t시간내 총 세대수를 뜻한다. 위 공식에 Log함수를 대입하면 다음과 같다.

$$\text{Log}N = \text{Log}N_0 + n\text{Log}2$$

이에 따라, 총 세대수 n은 $\text{Log}N - \text{Log}N_0 \div \text{Log}2(0.301)$ 이 된다.

여기에서, 최초 세균수 N₀는 가압부상된 100L의 고농축 배양액을 추출한 직후, 동일한 양의 새로운 배지를 첨가한 2톤의 배양기내 총 세균수가 되며, t시간이 경과한 후의 세균수 N은 배지 첨가 후 24시간이 경과한 추출직전의 총 세균수가 된다.

B line에서의 초기 세균수 와 추출직전의 총 세균수는 다음과 같으며, 이에 따라 총 세대수 n은 약 4.40세대가 된다.

$$\begin{aligned} \text{초기 균체수 } N_0 &= 3.0 \times 10^6 \text{ cells/ml} \\ \text{수확직전의 균체수 } N &= 6.35 \times 10^7 \text{ cells/ml} \\ \text{총 세대수 } n &= \text{Log}N - \text{Log}N_0 \div 0.301 \approx 4.40 \end{aligned}$$

한편, 세포의 비성장률(specific growth rate) k의 값은 0.301/g로 나타내는데, 여기서 g는 generation time, 즉 배가시간을 말한다. 배가시간(double time)은 총 배양시간을 세대수로 나눈 값이며, B line의 g값은 24시간을 세대수인 4.4로 나누게 됨에 따라 약 5.45시간이 된다. 따라서 B line에서 세포의 비성장률 k는 0.301을 5.45시간으로 나뉘어 약 0.055의 값이 나왔다.

$$\begin{aligned} g &= t/n = 24\text{시간}/4.4\text{세대} \approx 5.45 \\ k &= 0.301/g = 0.301/5.45 \approx 0.055 \end{aligned}$$

공기만을 주입한 A Line의 경우에는 희석 후 초기 균체수가 2.8 x 10⁶ cells/ml로 집계됨에 따라 총 세대수는 약 3.77세대로, generation time은 약 6.37시간, 비성장률 k의 값은 0.047로 나타났다.

한편, B line의 일평균 건조균체량은 수확한 100L의 균체를 건조하여 구한 중량값이 1,800g으로 계산됨에 따라, 이를 100L내의 총 균체수로 나눈 결과, 각 세포당 건조중량은 약 0.015μg/cell로 추정하였으며, 이를 일평균 균체수 6.35 x 10⁷ cells/ml x 2,000L로 곱하여 B line의 1L당 일평균 균체량은 0.953g/L로 나왔으며, 이산화탄소를 공급하지 않은 A line의 균체량은 0.574g/L로 계상되었다.

3.3 온도의 변화가 *Nannochloropsis*

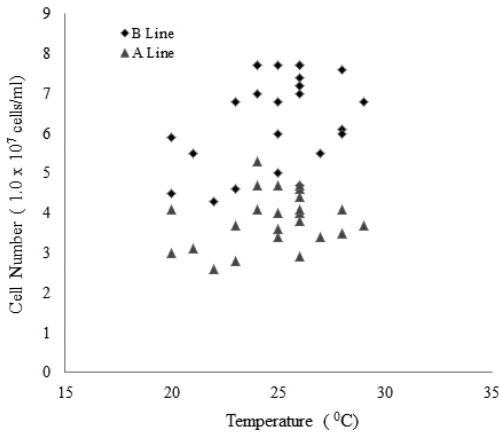
sp. 성장에 미치는 영향

본 실험은 2014년 9월 한달간 강릉지역에서 실험한 결과로써 이 지역의 최저기온은 20℃ 내외였고, 한낮 최고기온은 30℃를 넘어감에 따라 배양액의 온도를 최대한 25℃에서 30℃ 이내로 유지하

[Table 1] Specific Growth Rate, Average Cell Number, and Average Dry Weight of Cells in A & B line

	Average cell number per day	Average dry cell weight per day	Specific growth rate (k)
A line	3.83 x 10 ⁷ cells/ml	0.574g/L	0.047
B line	6.35 x 10 ⁷ cells/ml	0.953g/L	0.055

기 위하여 배양액의 온도가 29℃를 상회할 경우에는 냉각된 공기를 주입하여 최고온도가 30℃를 넘지 않도록 조절하였다. 실험기간동안 배양액의 최저온도는 20℃를 기록하였고, 최고온도는 31℃에 이르렀다[Fig 4]. 에서 보는바와 같이 실험기간내 온도의 변화가 세포의 증가에 크게 영향을 미치지 않고 있음을 알 수 있는데, 이는 온도의 범위가 25℃ ± 5℃로 그 변화폭이 그리 크지 않았기 때문으로 판단된다.



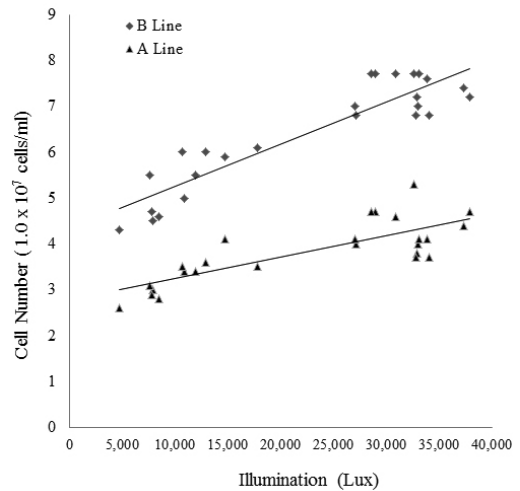
[Fig 4] Correlation between cell number and temperature during the culture. A line ; ambient air injected, B line ; 0.1% CO₂ injected.

3.4 빛의 세기가 *Nannochloropsis sp.* 성장에 미치는 영향

미세조류의 성장에 영향을 미치는 환경요인 중에서 빛의 역할은 매우 중요한 것으로 알려져 있다.^{6),7)} 본 실험에서도 이 같은 빛의 영향력을 보여주는 결과를 얻을 수 있었다. 실험이 이루어진 2014년 9월경, 강릉지역의 날씨는 흐린 날과 맑은 날이 거의 반반으로 나타났다. 비가 오거나 흐린 날의 경우 빛의 세기는 대체적으로 5,000럭스에서 3만 럭스 내외로 조사되었으며, 맑은 날의 경우 한 낮에는 30만 럭스가 상회하는 것으로 조사되었다. 빛의 강도가 너무 높을 경우에는 광포화도가 증가하여 광합성이 중단될 수 있으며, 또한 복사열에

의해서 배양액의 온도가 증가하여 저온성 해양미생물인 *Nannochloropsis sp.*의 성장을 억제할 수 있기 때문에 햇빛이 강한 맑은 날에는 그늘막을 설치하여 빛의 세기를 2만-3만 럭스로 유지하였다.

접종후 6일째부터 실험종료일인 30일째 까지 조류의 성장을 관찰해 본 결과,[Fig 5]에서 보는바와 같이 빛의 세기와 조류의 성장에는 매우 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다. 또한 0.1%의 탄소를 주입한 경우에 공기만을 주입한 경우보다 더욱 가파른 성장률을 보이고 있음을 알 수 있었다.



[Fig 5] Correlation between cell number and illumination during the culture. A line ; ambient air injected, B line ; 0.1% CO₂ injected.

4. 고찰 및 결론

본 연구에서는 유용미세조류인 *Nannochloropsis sp.*를 대상으로 (주)아이엠비즈에서 개발한 수직형 고효율 광배양기의 성능평가를 목표로 옥외배양을 통한 생산성 실험을 진행하였다. 본 실험은 기 개발된 배양기를 바탕으로 자가배양을 실시하였으며, 실험실 수준이 아닌, 2톤의 배양액을 처리하는 옥외에서 실험을 진행함으로써 기술의 실증화를 거쳤다는 것에 큰 의미가 있다 할 수 있다.

본 실험을 통하여 얻은 결과에서 알 수 있듯이 일평균 성장량은 0.1%의 CO₂를 공급하였을 경우 0.953g/L의 생산성을, 공기만을 주입했을 경우에는 0.574g/L의 생산성을 보여 주었으며, 0.953g/L를 단위면적당 생산성으로 환산할 경우, 약 303g/m².day로 나타났다. 본 실험에서 사용된 *Nannochloropsis sp.*는 저온 해양성 미세조류이며, 따라서, 중온성 담수조류를 배양할 경우에는 생산성이 배가될 것으로 기대하고 있다.

본 실험데이터는 기존 세계 최고의 생산성을 자랑하는 네덜란드 Bioking사의 22g/m².day나, 미국 Greenfuel사의 98g/m².day와 단순 비교하여도 매우 높은 수치로써 이들의 생산성을 뛰어넘는 세계 최고 수치라는 것에 그 중요성과 기술의 탁월함이 있다 하겠다. 앞으로 이들 회사에 대하여 경제성을 포함한 여러 면에서 구체적인 자료를 확보한 후 분석하게 되면 더 확실한 비교가 될 것이다.

본 실험에서 시도한 미세조류의 수확방법 또한 매우 우수한 것으로 판명되었다. 배양기에서 일정 기간 배양 후 단순 가압부상의 방법으로 수집한 결과, 배양액의 20배에 달하는 고농도로 축적된 세포를 수확할 수 있었으며, 수확 후 응집제를 사용하여 고액분리를 수월히 진행함에 따라 전체 공정 과정의 운영경비를 최소화 할 수 있는 방안이 제시되었다. 다만, 본 실험에서는 고분자응집제인 산화알루미늄을 사용함으로써 폐수의 재사용 및 알루미늄 축적에 의한 부산물 사용의 제한문제 등이 제기될 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위한 대안으로 제시한 것이 바로 기존의 고분자응집제 대신 OH⁻(하이드록시라디칼)을 이용하는 방안이다. OH⁻를 이용할 경우, 미세조류는 침전되지 않고 부상하게 되며 따라서, 이를 뜰채로 간단하게 수거할 수 있다. 또한 하이드록시라디칼은 폐수내의 독성 물질을 분해함으로써 재사용이 가능하다는 장점이 있어 이를 대체할 경우, 경제성과 기술성, 친환경성을 골고루 갖춘 미세조류 배양 및 수확시스템이 확립될 것으로 기대하고 있다.

한편, 본 성장성 실험에서 이산화탄소와 빛은 생장의 주요요소로 작용하고 있음이 밝혀졌으며, 이

에, 차후에는 생장에 필요한 이산화탄소의 최적농도와 공급방법, 그리고 빛과 관련하여 빛의 세기 및 특정영역대의 빛의 파장이 생장에 미치는 영향 등을 연구하여 더 높은 생산성을 추구하고자 한다.

참고문헌

1. Scott, S.A., Davey, M.P., Dennis, J.S., Horst, I., Howe, C.J., Lea-Smith, D.J., Smith, A.G., "Biodiesel from algae: challenges and prospects", *Cur Opin Biotechnol*, 21(3), pp 277~286 (2010).
2. Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae", *Biotechnol Adv*, 25(3), pp 294~306 (2007).
3. Amaro, H.M., Guedes, A.C., Malcata, F.X., "Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel", *Appl Energy*, 88(10), pp 3402~3410 (2011).
4. Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae beats bioethanol", *Trends Biotechnol*, 26(3), pp 126~131 (2008).
5. Park, I.C., O-Nam, Kwon, Sung-Eic, Hong, Heui-Chun, An, Jea-Hyun, Bae, Mi-Sun Park and Heum-Gi, Park, "Changes in the Growth and Biochemical Composition of *Nannochloropsis sp.* Cultures Using Light-Emitting Diodes", *Kor J Fish Aquat Sci*, 46(3), pp 259-265, 2013 (2013).
6. Rocha, J.M., Garcia, J.E. and Henriques, M.H., "Growth aspects of the marine microalgae *Nannochloropsis gaditana*", *Biomol Eng*, 20, pp 237-242 (2003).
7. Sanchez-Saavedra, M.P. and Voltolina, D., "The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros sp.* grown with different light sources", *Aquacult Eng*, 35, pp 161-165 (2006). 