

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2011년 8월 25일 (25.08.2011)



(10) 국제공개번호
WO 2011/102593 A2

- (51) 국제특허분류:
C12M 3/00 (2006.01) *C12M 1/24* (2006.01)
C12M 1/04 (2006.01) *C12M 1/36* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2010/008036
- (22) 국제출원일: 2010년 11월 15일 (15.11.2010)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0014481 2010년 2월 18일 (18.02.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52, 305-806 Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 오희목 (OH, Hee Mock) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 신성동 153 하나아파트 101-1101, 305-721 Daejeon (KR). 유찬 (YOO, Chan) [KR/KR]; 서울특별시 관악구 신림 5동 1448-14 호 2층, 151-891 Seoul (KR). 김희식 (KIM, Hee Sik) [KR/KR]; 경기도 화성시 반송동 나루마을 신도브래뉴 A 620 동 702 호, 445-730 Gyeonggi-do (KR). 안치용 (AHN, Chi Yong) [KR/KR]; 대전광역시

유성구 지족동 열매마을아파트 304 동 2002 호, 305-769 Daejeon (KR). 이재연 (LEE, Jae Yon) [KR/KR]; 대전광역시 대덕구 범동 주공아파트 201 동 110 호, 306-060 Daejeon (KR).

(74) 대리인: 한라특허법인 (HALLA PATENT & LAW FIRM); 서울시 강남구 도곡동 949-3 캠퍼스벤처타워 9층, 135-270 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

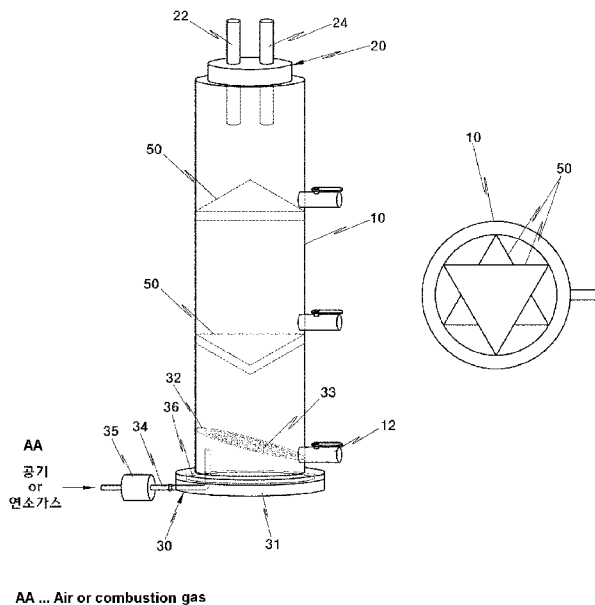
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHOTOBIOREACTOR FOR HIGH-DENSITY MICROALGAE CULTURING, AND A MICROALGAE CULTURING AND HARVESTING METHOD USING THE SAME

(54) 발명의 명칭: 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법

[Fig. 8]



(57) Abstract: The present invention relates to a photobioreactor for high-density microalgae culturing, and to a microalgae culturing and harvesting method using the same, and more specifically relates to a photobioreactor for high-density microalgae culturing which allows low-cost, high quality, volume production of microalgae such as *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.* and *Spirulina sp.* that are useful in processing carbon dioxide and also in the production of, by way of example, biodiesel, feed additives and health supplements, and relates to a microalgae culturing and harvesting method using the same. To this end, provided is a photobioreactor for high-density microalgae culturing comprising: a microalgae culturing reactor which is made with a closed structure, and is formed with a culture-liquid discharge port in a predetermined position at the bottom end; a reactor stopper which is joined in a detachable fashion to the upper end of the microalgae culturing reactor; a culture-liquid inflow tube and an air discharge tube which are inserted into the reactor stopper so as to connect through to the inside of the microalgae culturing reactor; and an air injection part which is joined in a detachable fashion to the lower end of the microalgae culturing reactor, and is for supplying air or a combustion gas into the microalgae culturing reactor, and also provided is a microalgae culturing and harvesting method using the same.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2011/102593 A2



SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 세네데스무스(*Scenedesmus* sp.), 클로렐라(*Chlorella* sp.), 스피룰리나(*Spirulina* sp.) 등과 같은 이산화탄소의 처리와 동시에 바이오디젤, 사료첨가제, 건강보조식품 등의 생산에 유용한 미세조류의 저비용, 고품질, 대량생산을 실현시킬 수 있는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법에 관한 것이다. 이를 위해, 본 발명은 폐쇄형 구조로 제작되고, 하단의 소정 위치에 배양액 배출구가 형성된 미세조류 배양 반응기; 미세조류 배양 반응기의 상단에 탈부착 가능하게 결합되는 반응기 마개; 상기 반응기 마개에 미세조류 배양 반응기의 내부와 연통되도록 삽입되는 배양액 유입관 및 공기배출관; 미세조류 배양 반응기의 하단에 탈부착 가능하게 결합되어, 미세조류 배양 반응기내에 공기 또는 연소가스를 공급하는 공기주입부; 를 포함하여 구성된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법을 제공한다.

명세서

발명의 명칭: 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법

기술분야

[0001] 본 발명은 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 세네데스무스(*Scenedesmus* sp.), 클로렐라(*Chlorella* sp.), 스피룰리나(*Spirulina* sp.) 등과 같은 이산화탄소의 처리와 동시에 바이오디젤, 사료첨가제, 건강보조식품 등의 생산에 유용한 미세조류의 저비용, 고품질, 대량생산을 실현시킬 수 있는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와, 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 현재, 미세조류는 40,000 종 이상의 많은 종류가 알려져 있으며, 다양한 특성을 지닌 생물군으로 알려져 있다.

[0003] 이러한 미세조류는 광합성 작용을 이용하여 대기 또는 연소 배가스 내의 이산화탄소를 고정하고 동시에 산소를 생산하는 기능을 하며, 특히 단백질 및 지질의 함량이 높고, 필수 아미노산 및 DHA, EPA 등이 함유되어 있어 건강보조식품 및 사료로 선호되고 있다[Oh, H.M., *et al.*, 2003, High-value material from microalgae].

[0004] 또한, 미세조류 중 축산폐수 처리 기술에 이용되는 클로렐라는 호수 및 하천의 녹조 원인물질인 질소, 인 등의 영양염류 제거에 탁월한 효과를 보이는 것으로 알려져 있다[Gonzalez, C., *et al.*, 2008, Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggyery wastewaters].

[0005] 최근 연구에 따르면, 미세조류 중 세네데스무스는 고농도의 이산화탄소 조건에서도 성장이 우수하여 대기 중으로 배출되는 이산화탄소를 처리할 뿐만 아니라, 세포 내의 지질함량이 높아 바이오디젤의 원료원으로 많은 주목을 받고 있다[Morais, M.G., *et al.*, 2007, Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant form biofixation of carbon dioxide].

[0006] 이와 같이, 산업적으로 유용한 미세조류를 저비용으로 대량생산하기 위해서 종래에는 옥외 개방형 반응조를 주로 이용하였는 바, 그러나 옥외 개방형 반응조는 온도, pH 등과 같은 배양조건을 조절하기가 어렵고, 외부로부터 유입되는 미생물에 의하여 배양액 및 미세조류가 오염되기 쉬운 단점이 있었다.

[0007] 또한, 상기 옥외 개방형 반응조는 수차 등과 같은 별도의 교반장치의 설치가 필수적으로 요구되고, 이 교반장치를 설치하더라도 균일한 교반 및 가스교환이 어려우며, 많은 에너지가 소모되는 단점이 있다.

[0008] 위와 같은 이유로 인하여, 종래의 옥외 개방형 반응기는 미세조류의 고밀도

배양이 어려워, 미세조류의 생산성이 낮으며, 그 품질이 저하되는 문제점이 있다.

- [0009] 또한, 배양액으로부터 미세조류를 수확하는 비용이 전체 생산비용의 약 1/3이 소요되고, 효과적인 수확법인 침전 및 부상의 방법을 이용하기 어려워 경제적 생산과 생산공정의 단순화에 어려움이 있다.

발명의 요약

기술적 과제

- [0010] 본 발명은 상기와 같은 종래의 문제점을 해결하기 위하여 연구된 결과물로서, 배양액에 대한 외부 접촉을 최소화함으로써, 외부로부터 유해 미생물의 혼입을 최소화할 수 있고, 세네데스무스(*Scenedesmus* sp.)와 같은 유용한 미세조류를 순수하게 고밀도로 대량 배양하여 생산성 및 제품의 질을 향상시킬 수 있는 폐쇄형 원통형 격막 구조를 갖는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.
- [0011] 또한, 본 발명은 광합성의 탄소원이 포함된 배기가스를 교반 및 수확에 이용하여 전공정이 하나의 반응기에서 이루어져 생산공정을 단순화시킬 수 있고, 생산비용을 줄일 수 있으며, 침전에 의한 수확의 효율을 최대화하여 미세조류의 대량 배양을 가능하게 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기와 이를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제 해결 수단

- [0012] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 구현예는: 폐쇄형 구조로 제작되고, 하단의 소정 위치에 배양액 배출구가 형성된 미세조류 배양 반응기; 미세조류 배양 반응기의 상단에 탈부착 가능하게 결합되는 반응기 마개; 상기 반응기 마개에 미세조류 배양 반응기의 내부와 연통되도록 삽입되는 배양액 유입관 및 공기배출관; 미세조류 배양 반응기의 하단에 탈부착 가능하게 결합되어, 미세조류 배양 반응기내에 공기 또는 배기가스를 공급하는 공기주입부; 를 포함하여 구성된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 제공한다.
- [0013] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 구현예는: 미세조류 배양 반응기내에 배양액을 투입하는 단계와; 미세조류 배양 반응기의 하단에 형성된 공기주입부를 통하여 반응기내로 광합성의 탄소원인 배기가스를 상향 공급하는 단계와; 밀폐된 미세조류 배양 반응기내의 미세조류 배양액을 소정의 배양 조건하에서 배양시키는 단계; 미세조류 배양 후 연소 배기가스를 이용한 응집반응을 통한 미세조류 수확 단계; 로 이루어지는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법을 제공한다.

[0014]

발명의 효과

- [0015] 상기한 과제 해결 수단을 통하여, 본 발명은 다음과 같은 효과를 제공한다.
- [0016] 본 발명에 따르면, 미세조류를 순수하게 고밀도 대량배양을 위하여 반응기 하단에 설치된 공기주입부를 통해 광합성의 탄소원이 포함된 가스원을 하단에서 상향 공급하여, 배양액의 균일한 교반을 유도하여 광 이용율을 최대화할 수 있고, 공기주입부에 설치된 공기스파저(air sparger)를 통해 기포의 크기를 미세하게 만들어 가스원에 포함된 탄소원을 배양액에 효과적으로 용존시켜 미세조류의 고밀도 배양을 용이하게 실현할 수 있다.
- [0017] 특히, 폐쇄형으로 제작된 본 발명의 반응기를 통해 배양액이 외부와 접촉을 최소화하고자, 공기주입부에 필터장치를 부착하여 외부로부터 미세조류 배양에 악영향을 미치는 원생동물 및 곰팡이의 유입을 차단함으로써, 순수배양이 이루어져 배양된 미세조류의 품질을 향상시키킬 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명은 미세조류의 배양에 공급하는 가스원의 유량을 조절하여 침전 반응에 필수적인 급속 및 저속교반을 용이하게 유도할 수 있어 침전반응의 효율이 상승되며, 가스 주입이 함께 이루어지는 공기주입관의 상면을 경사진 구조로 적용하여 응집된 세포들이 배출구 부분에 농축되어 배양된 세포의 수확을 보다 효과적으로 실시할 수 있다.
- [0019] 뿐만 아니라, 응집 반응을 통한 수확이 이루어진 후, 응집여액(상등액)의 처리를 위한 별도의 추가 장치가 필요없고, 응집여액을 반응기 내에서 배양액으로 재사용이 가능하여, 배양에 필요한 물, 영양 염류 등의 사용을 최소화할 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명의 반응기 내부에 삼각형 격막(septum)을 다수 설치하여 공급되는 공기 및 가스의 체류시간을 연장하여 배기(연소)가스에 포함된 이산화탄소 용존율을 증대시킴과 동시에 배양액의 와류를 유도함으로써, 배양액의 교반효율을 높여, 미세조류의 고밀도 배양을 보다 안정적으로 수행할 수 있다.

[0021]

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명에 따른 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기로서, 미세조류의 고밀도 순수배양을 위한 폐쇄형 원통형 광생물반응기를 나타내는 사시도,
- [0023] 도 2a 및 도 2b는 본 발명에 따른 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기의 공기주입부에 대한 평면도 및 측면도,
- [0024] 도 3는 아크릴 재질을 이용하여 실제 제작된 공기주입부의 사진,
- [0025] 도 4은 아크릴 재질로 제작된 실제 반응기의 모습을 보여주는 사진,
- [0026] 도 5는 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에 연소배가스를 공급하여 세네데스무스를 고밀도 배양한 사진,
- [0027] 도 6의 A 도면은 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에서 배양된 세네데스무스의 배양액을 광학현미경의 $\times 200$ 배율에서 관찰한 사진이고, B

도면은 종래의 개방형 수로식 광생물반응기에서 배양된 세네테스무스의 배양액을 광학현미경의 $\times 100$ 배율에서 관찰한 사진,

[0028] 도 7은 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에서 배양된 세네테스무스 배양액사진(왼쪽)과, 보조응집제(CaCl_2 와 FeCl_3)를 첨가하고 연소배가스로 교반한 후 정지시켜 응집 반응한 사진(오른쪽),

[0029] 도 8은 본 발명에 따른 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기의 다른 실시예로서, 내부에 공기분산용 격막(septum)을 설치한 예를 나타낸 도면.

[0030]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[0031] 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 첨부도면을 참조로 상세하게 설명하기로 한다.

[0032] 본 발명은 미세조류의 성장에 유해한 원생동물 및 곰팡이의 유입을 차단하여 순수배양이 이루어지도록 함으로써, 생산된 미세조류의 품질을 향상시킬 수 있는 점, 광합성의 탄소원이 포함된 가스원을 공기주입부에 부착된 공기스파저를 통해 공급함으로써, 가스원의 기포 크기를 미세하게 만들어 가스교환율을 높여 가스원의 용존률을 향상시킴과 함께 배양액 내에 탄소원이 고농도로 유지될 수 있는 점, 그리고 공급되는 가스원을 교반에 이용하여 배양액 내의 미세조류가 균일하게 분산될 수 있도록 함으로써, 광원의 이용률 및 배양기 내부로의 투과거리를 높여 광합성 효율이 증대되고 이로 인해 고밀도 대량 배양이 이루어질 수 있는 점 등에 주안점이 있다.

[0033] 이를 위해, 본 발명에 따른 광생물반응기는 원통형 격막 구조를 갖는 광생물반응기(A column-type septum photobioreactor)로서, 폐쇄형으로 제작되어 외부와의 접촉면적을 최소화시키고, 빛의 투과성 및 내구성이 우수하며, 이동에 유리한 아크릴 재질로 제작된다.

[0034] 첨부한 도 1은 본 발명에 사용된 미세조류의 고밀도 순수배양을 위한 폐쇄형 원통형 광생물반응기(closed culumn-type photobioreactor)의 모식도이고, 도 2a 및 도 2b는 각각 공기주입부를 나타내는 평면도 및 측면도이며, 도 3은 아크릴 재질을 이용하여 제작된 공기주입부의 실제 사진이며, 도 4는 아크릴 재질로 제작된 실제 반응기에 대한 사진이다.

[0035] 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기는 내부에 격막 구조를 갖는 폐쇄형 구조로 제작되는 미세조류 배양 반응기(10)와, 미세조류 배양 반응기(10)의 상단에 결합되는 반응기 마개(20)와, 미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 결합되는 공기주입부(30) 등 크게 3개의 부분으로 구성되고, 이러한 본 발명의 원통형 광생물반응기의 세징 및 운반, 그리고 보관에 유리하도록 미세조류 배양 반응기(10)로부터 반응기 마개(20)와 공기주입부(30)는 탈부착이 가능한 구조로 제작된다.

[0036] 바람직하게는, 상기 미세조류 배양 반응기(10)는 길이 1.5 m, 내부지름은 0.2 m,

- 최대 배양부피는 47 L, 적정배양 부피는 40 L 등을 규격으로 하여 제작된다.
- [0037] 또한, 상기 미세조류 배양 반응기(10)의 하단 측둘레면 소정 위치에는 응집반응 후 농축된 미세조류를 신속하면서도 간편하게 수확하기 위해 배양기 하단에 배양액 배출구(12)가 형성된다.
- [0038] 상기 반응기 마개(20)는 미세조류 배양 반응기(10)의 상단에 탈부착이 가능하게 장착된다.
- [0039] 이때, 상기 반응기 마개(20)에는 미세조류 배양 반응기(10)의 내부와 연통되도록 배양액 유입관(22)이 삽입 설치되는 바, 이 배양액 유입관(22)을 통하여 수확 및 증발에 의해 손실된 배양액을 보충하게 된다.
- [0040] 또한, 상기 반응기 마개(20)에는 배양액 유입관(22) 외에 공기 배출관(24)이 미세조류 배양 반응기(10)의 내부와 연통 가능하게 삽입 설치되며, 이 공기 배출관(24)을 통해 미세조류 배양 반응기(10)내에서 미세조류 배양에 사용된 가스원이 외부로 배출되어진다.
- [0041] 상기 공기주입부(30)는 미세조류 배양 반응기(10)의 저부로부터 위쪽으로 가스원을 상향 공급하여 가스원내에 포함된 탄소원의 용존 및 배양액 교반을 유도하고, 특히 공기주입부(30)의 중앙에 배치되는 공기스파저(air sparger)에 의하여 가스원의 기포크기를 미세하게 만들어 가스원 내의 탄소원이 배양액으로 높은 효율로 용존될 수 있도록 구성된 것이다.
- [0042] 보다 상세하게는, 상기 공기주입부(30)는 상면이 경사진 각도로 이루어진 원통관 형태의 공기주입관(32)을 골격으로 하고, 이 공기주입관(32)의 저부는 밀폐 및 받침 기능을 하는 보다 큰 직경의 받침대(31)에 부착되며, 또한 공기주입관(32)의 경사진 상부에는 암석으로 제작된 공기스파저(33: air sparger)가 부착된 구조로 제작된다.
- [0043] 이때, 상기 공기주입부(30)의 공기주입관(32)의 상부를 경사지게 형성한 이유는 미세조류 배양 반응기(10)내에서 응집 후에 응축된 미세조류가 미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 형성된 배양액 배출구(12)를 향하여 신속하게 배출될 수 있도록 함에 있다.
- [0044] 또한, 상기 공기주입부(30)는 받침대(31)의 일측부를 통하여 수평 삽입되는 동시에 공기주입관(32)의 내부쪽으로 수직 연장되는 공기주입튜브(34)를 포함하고, 이 공기주입튜브(34)의 소정 위치에는 미세조류의 성장에 유해한 세균 및 곰팡이의 유입을 차단하여 미세조류의 순수배양이 이루어지도록 하는 공기필터(35)가 장착된다.
- [0045] 즉, 상기 받침대(31)에 수평방향의 홈을 뚫어 공기주입튜브(34)를 받침대(31)내로 수평 삽입하는 동시에 그 위쪽의 공기주입관(32)으로 수직 연장되도록 하고, 공기주입튜브(34)에 0.2 μm 의 공기필터(35)를 설치하여 외부로부터 미세조류 배양에 유해한 세균 및 곰팡이의 유입을 차단하도록 한다.
- [0046] 특히, 신속하고 효과적인 수확을 위해 화학적, 생물학적 응집제를 배양액에 처리한 후, 탄소원이 포함된 가스원(배기가스)을 공기필터(35)를 갖는

공기주입튜브(34)를 통해 미세조류 배양 반응기(10)내에 공급하여 응집반응을 유도할 수 있다.

[0047] 한편, 상기 받침대(31)의 상면 중 공기주입관(32)의 바깥쪽 상면에는 그 둘레방향을 따라 고무패킹(36)이 삽입 장착된다.

[0048] 따라서, 상기 미세조류 배양 반응기(10)의 하단 내부를 통해 공기주입관(32)을 압입하는 동시에 미세조류 배양 반응기(10)의 저면이 받침대(31)의 고무패킹(36)에 닿으면서 결합되고, 결국 미세조류 배양 반응기(10)의 내부는 밀폐된 상태가 된다.

[0049] 이와 같이, 상기 공기주입부(30)의 공기주입관(32)의 내부지름은 미세조류 배양 반응기(10)와 동일하게 0.2 m로 제작하고, 공기주입관(32)의 상단 경사부에 압식으로 제작된 공기스파저(33)가 설치하며, 미세지름이 0.3 m 크기의 받침대(31)를 공기주입관(32)의 저부에 부착하여 전체 광생물반응기의 안전한 설치를 유도할 수 있으며, 또한 상기 받침대(31)의 고무패킹에 미세조류 배양 반응기(10)의 저면이 닿으면서 결합되도록 함으로써, 미세조류 배양 반응기(10)내의 배양액이 누출되는 것을 방지할 수 있다.

[0050] 한편, 본 발명에 따른 미세조류 배양 반응기(10) 내에 첨부한 8에 도시된 바와 같이, 공기분산용 격막(50: septum)을 더 설치하여, 배기가스의 체류시간을 연장시키고, 기포의 크기를 미세하게 만들 수 있을 뿐만 아니라, 배양액 내에 와류를 형성하여 배기가스내의 이산화탄소의 용존을 증가와 배양액의 교반효율을 향상시켜 줌으로써, 미세조류의 고밀도 배양에 대한 신뢰성을 향상시킬 수 있다.

[0051] 바람직하게는, 상기 공기분산용 격막(50)은 삼각형 판체 구조로 제작하여, 미세조류 배양 반응기(10)내에서 그 상하 길이방향을 따라 등간격으로 복수개를 부착시킨다.

[0052] 따라서, 배기가스를 공기필터(35)를 갖는 공기주입튜브(34)를 통해 미세조류 배양 반응기(10)내에 공급하게 되면, 배기가스가 공기분산용 격막(50)에 닿으면서 그 체류시간이 더 연장될 수 있고, 또한 기포의 크기를 미세하게 만들면서 배양액 내에 와류를 형성함으로써, 배기가스내의 이산화탄소 용존을 증가 및 배양액의 교반효율을 한층 더 향상시킬 수 있고, 결국 미세조류의 고밀도 배양이 용이하게 이루어질 수 있다.

[0053] 이하, 상기한 구성의 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 통해 이루어지는 본 발명의 미세조류 배양 및 수확 방법을 하기의 실시예를 통해 설명하기로 한다.

[0054] 실시예

[0055] 상기한 구성으로 제작된 본 발명의 광생물 반응기를 이용하여 바이오디젤 생산 및 폐수처리에 유용한 세네테스무스를 배양하였는 바, 세네테스무스의 배양액은 아래의 표 1과 같은 조성의 BG11 배지를 사용하였다.

[0056] (표1)

[0057]

배지 성분	함량(mg/1 L)
NaNO ₃	1500
K ₂ HPO ₄	39
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75
Na ₂ CO ₃	21
CaCl ₂	27
Ferric citrate	6
Citric acid	6
Na ₂ EDTA	1
Microelement	1 ml
microelement (mg/500 ml)	
H ₃ BO ₃	2860
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1810
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	222
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	391
CuSO ₄ ·5H ₂ O	79
Co(NO ₃) ₂ ·5H ₂ O	49.4

[0058]

[0059]

[0060] 즉, 미세조류 배양 반응기(10)의 상단에 장착된 반응기 마개(20)의 배양액 유입관(22)을 통하여 세네테스무스의 배양액을 투입하고, 미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 형성된 공기주입부(30)의 공기주입튜브(34)를 통하여 반응기(10)내로 공기를 공급하였다.

[0061] 이때, 상기 공기주입관(32)으로 공급되는 공기는 공기주입튜브(34)에 장착된 공기필터(35)를 통과함에 따라, 외부로부터 미세조류 배양에 유해한 세균 및 곰팡이의 유입이 차단된다.

[0062] 또한, 상기 공기주입튜브(34)를 통하여 광합성의 탄소원으로는 LPG 가스를 기반으로 하는 보일러로부터 이산화탄소가 5.5% 함유되어 배출되는 실제 연소가스를 공급하였는 바, 상기 공기스파저(33: air sparger)에 의하여 가스원의 기포크기가 미세하게 만들어져 가스원 내의 탄소원이 배양액으로 높은 효율로 용존되도록 하였다.

[0063] 이러한 배양조건으로는, 온도가 25°C로 유지되도록 항온항습실에서 인공광원인 형광등을 이용하여 조사하였으며, 그 광도는 120 µmol/m²/s가 되도록 하였다.

[0064] 이렇게 함으로써, 일정 시간이 지난 후 첨부한 도 5에서 보는 바와 같이, 본 발명의 미세조류 배양 반응기(10)내의 30 L 배양액에서 세네테스무스가 고밀도 배양된 모습을 관찰할 수 있었다.

[0065] 비교예

- [0066] 종래의 개방형 수로식 반응조를 이용하여 실시예과 같은 배양조건하에서 세네테스무스를 배양하였다.
- [0067] **시험예1**
- [0068] 상기한 실시예에 따라 대량 배양된 미세조류 즉, 세네테스무스에 대한 생산성을 비교하기 위해, 비교예인 종래의 개방형 수로식 반응조로부터 배양된 세네테스무스와 그 최대 건조중량을 비교하였다.
- [0069] 그 결과, 본 발명의 실시예에 따라 생산된 미세조류의 최대 건조중량은 2.98 g/L였으며, 비교예인 개방형 수로식 반응조에서는 미세조류의 최대 건조중량은 0.34 g/L이었던 바, 이는 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에서 최대건조중량이 약 8.7 배 높았으며, 결국 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에서 고밀도 배양이 가능함을 알 수 있었다.
- [0070] **시험예 2**
- [0071] 상기한 실시예 및 비교예에 따라 배양된 미세조류에 외부로부터 유해한 원생동물 및 곰팡이, 또는 다른 종의 조류 등의 유입 여부를 확인하기 위해 광학현미경을 이용하여 배양액을 확인하였는 바, 그 결과는 첨부한 도 6에 나타낸 바와 같다.
- [0072] 도 6의 (A)에서 보듯이, 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기에서는 세네테스무스 이외의 다른 곰팡이, 원생동물, 조류 등은 관찰되지 않았으며, 세네테스무스가 세포의 원형을 유지하면서 배양액 내에서 우점하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0073] 반면, 도 6의 (B)에서 보듯이, 비교예인 종래의 개방형 수로식 반응조에서는 실사체의 곰팡이로 추정되는 미생물, 원생동물, 기타 조류들이 다수 관찰되었으며, 세네테스무스의 성장상태는 비정상적으로 배양액 내에서 우점하지 못하는 것으로 관찰되었다.
- [0074] 따라서, 본 발명에 따른 폐쇄형 원통형 광생물반응기 및 이를 이용한 배양법에 의거, 기존의 반응조 및 방법에 비해 고밀도 순수 배양이 가능함을 알 수 있었다.
- [0075] **시험예3**
- [0076] 상기한 실시예에 의거, 본 발명의 폐쇄형 원통형 광생물반응기 내에서 미세조류의 배양이 끝난 후, 세포의 간편하고 신속하게 수확하기 위하여, 응집제를 배양액에 첨가하고, 배양에 이용한 연소가스를 공급하여 배양액을 균일하게 교반하여 응집반응을 유도하였다.
- [0077] 즉, 본 발명에 따른 폐쇄형 원통형 광생물반응기의 미세조류 배양 반응기(10)에서 2.98 g/L로 배양된 세네테스무스 배양액 30 L에 응집제 CaCl_2 와 FeCl_3 를 동시에 첨가하고, 공기필터(35)를 갖는 공기주입튜브(34)를 통해 연소가스(LPG 가스를 기반으로 하는 보일러로부터 이산화탄소가 5.5% 함유되어 배출되는 실제 연소가스)를 일정 시간동안 공급하여 급속 교반을 유도하였으며, 이후 연소가스의 공급을 차단하여 5분간 정치하였는 바, 그 결과는 첨부한 도 7에 나타낸 바와 같다.

- [0078] 도 7의 왼쪽 반응기는 응집반응을 유도하지 않은 폐쇄형 원통형 광생물반응기로서, 조체와 배양액의 분리가 전혀 이루어지지 않음을 알 수 있고, 반면에 도 7의 오른쪽 반응기는 응집제인 CaCl_2 와 FeCl_3 를 첨가하여 응집반응을 유도한 폐쇄형 원통형 광생물반응기로서, 조체가 침강에 의해 배양액과 완벽하게 분리된 것을 알 수 있었다.
- [0079] 이러한 미세조류의 배양 후, 종래의 수확공정에는 원심분리 및 자연침강에 의해 조체를 모으는 것이 일반적이나, 이들 종래의 방법은 고가의 기계장치와 장시간이 소요되어 미세조류의 신속한 수확이 이루어지지 못하고, 또한 기존의 응집을 이용한 조체의 수확법은 보조응집제와 주응집제를 투입하고 일정 시간의 교반 및 정지 시간이 필요하였으나, 본 발명에 따른 응집반응에 의한 수확법은 보조응집제만 이용하여 수확비용을 줄였으며, 또한 2가지의 보조응집제를 동시에 처리하여 신속한 응집반응을 유도함으로써, 반응시간을 5분 이내로 단축시켜 대량의 배양액으로부터 미세조류를 신속한 분리하는 것이 가능함을 알 수 있었다.
- [0080] 또한, 응집반응의 효율을 측정하기 위해 응집 반응 전/후의 배양액 상층의 광학밀도(OD, optical density)를 680 nm 파장에서 측정하였고, 응집효율을 다음 수식식1을 이용하여 계산하였다.

[0081]

$$\text{응집 효율}(\%) = \frac{\text{반응전 OD} - \text{반응후 OD}}{\text{반응전 OD}} \times 100$$

- [0082] 계산 결과, 본 발명의 광생물반응기에서 연소가스를 이용한 응집효율은 99% 이상으로 매우 높았으며, 이로부터 본 발명의 응집 수확법은 배양된 미세조류를 신속하고 간편하게 수확할 수 있고, 생산공정을 단순화시킬 수 있으며, 또한 응집반응 후 응집여액의 처리에 필요한 추가장치가 필요 없고, 배양기 내에서 응집여액(상등액)을 배양액으로 재사용하여 배양에 필요한 물과 영양염류의 공급을 최소화 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0083] (부호의 설명)

[0084] 10 : 미세조류 배양 반응기 12 : 배양액 배출구

[0085] 20 : 반응기 마개 22 : 배양액 유입관

[0086] 24 : 공기 배출관 30 : 공기주입부

[0087] 31 : 받침대 32 : 공기주입관

[0088] 33 : 공기스파저 34 : 공기주입튜브

[0089] 35 : 공기필터 36 : 고무패킹

[0090] 50 : 공기분산용 격막

[0091]

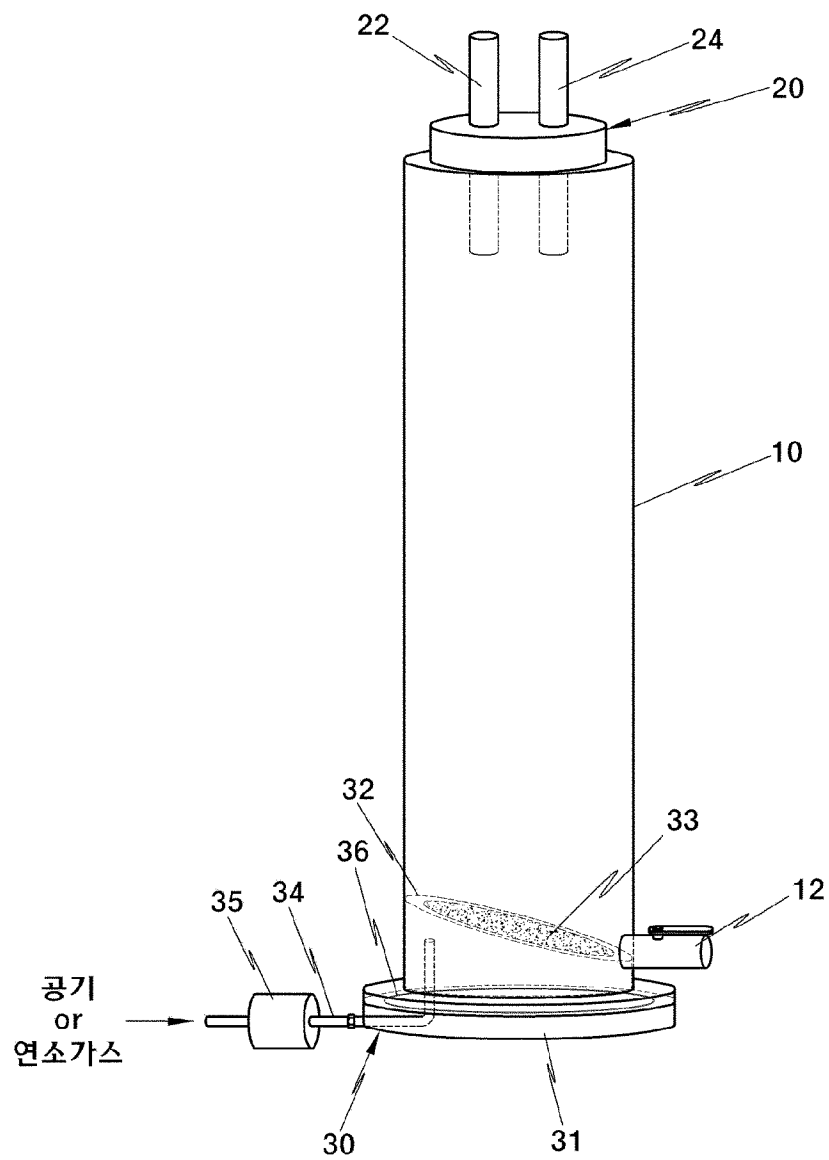
청구범위

- [청구항 1] 폐쇄형 구조로 제작되고, 하단의 소정 위치에 배양액 배출구(12)가 형성된 미세조류 배양 반응기(10);
미세조류 배양 반응기(10)의 상단에 탈부착 가능하게 결합되는 반응기 마개(20);
상기 반응기 마개(20)에 미세조류 배양 반응기(10)의 내부와 연통되도록 삽입되는 배양액 유입관(22) 및 공기배출관(24);
미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 탈부착 가능하게 결합되어, 미세조류 배양 반응기(10)내에 공기 또는 배기가스를 공급하는 공기주입부(30);
를 포함하여 구성된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
상기 미세조류 배양 반응기(10)의 내부에는 복수개의 공기분산용 격막(50)이 그 상하 길이방향을 따라 등간격으로 설치된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.
- [청구항 3] 청구항 2에 있어서,
상기 공기분산용 격막(50)은 삼각형 판체 구조로 제작된 것임을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서,
상기 미세조류 배양 반응기(10)는 길이 1.5 m, 내부지름은 0.2 m, 최대 배양부피는 47 L, 적정배양 부피는 40 L 등을 규격으로 하여 원통형 구조로 제작된 것임을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서,
상기 공기주입부(30)는:
상면이 경사진 각도로 이루어져 미세조류 배양 반응기(10)의 하단 내부를 통해 압입되는 공기주입관(32)과;
공기주입관(32)의 경사진 상부에 부착되는 공기스파저(33)와;
공기주입관(32)의 저면에 일체로 부착되는 보다 큰 직경의 받침대(31)와;
받침대(31)의 일측부를 통하여 수평 삽입되는 동시에 공기주입관(32)의 내부쪽으로 수직 연장되어 공기 또는 배기가스의 공급경로가 되는 공기주입튜브(34)와;
공기주입튜브(34)의 소정 위치에 장착되는 공기필터(35);
로 구성된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.

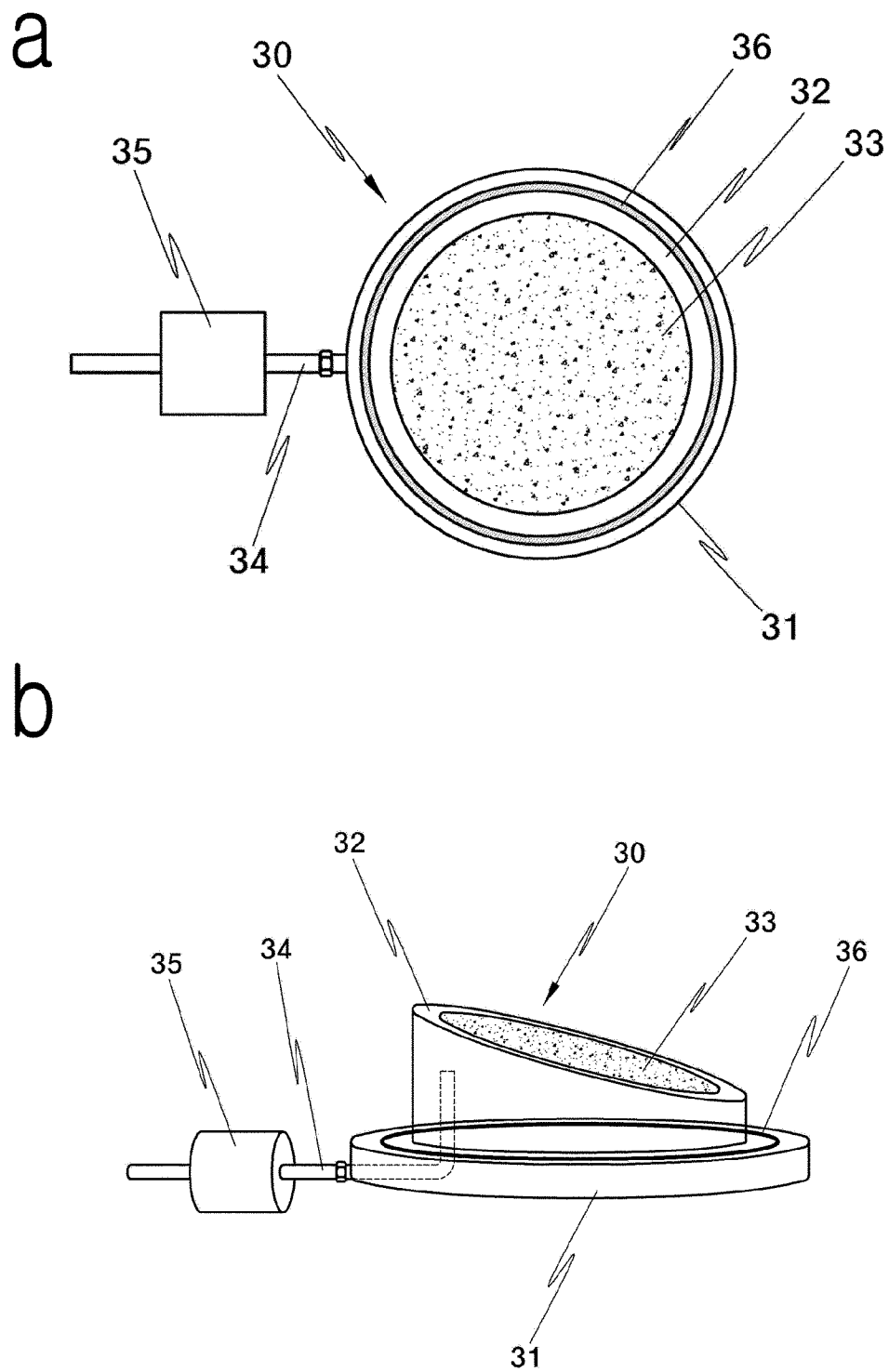
- [청구항 6] 청구항 5에 있어서, 상기 받침대(31)의 상면중 공기주입관(32)의 바깥쪽 상면에는 그 둘레방향을 따라 미세조류 배양 반응기(10)의 저면이 닿는 고무패킹(36)이 삽입 장착된 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기.
- [청구항 7] 미세조류 배양 반응기(10) 내에 배양액을 투입하는 단계와;
 미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 형성된 공기주입부(30)의 공기주입관(32)을 통하여 반응기(10)내로 공기를 상향 공급하는 단계와;
 미세조류 배양 반응기(10)의 하단에 형성된 공기주입부(30)의 공기주입관(32)을 통하여 광합성의 탄소원인 배기가스를 상향 공급하는 단계와;
 밀폐된 미세조류 배양 반응기(10)내의 미세조류 배양액을 소정의 배양 조건하에서 배양시키는 단계;
 미세조류 배양 후 연소 배기가스를 이용한 응집반응을 통한 미세조류 수확 단계;
 로 이루어지는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 8] 청구항 7에 있어서,
 상기 공기 또는 배기가스가 반응기(10)로 공급될 때,
 공기스파저(33)를 통해 공기 및 가스원의 기포크기가 미세하게 만들어져 반응기(10)내로 공급되는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 9] 청구항 7에 있어서,
 상기 공기 또는 배기가스가 반응기(10)로 공급될 때,
 공기필터(35)를 통과하여 외부로부터 미세조류 배양에 유해한 세균 및 곰팡이의 유입이 차단되도록 한 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 10] 청구항 7에 있어서,
 상기 공기 또는 배기가스가 반응기(10)로 공급될 때, 미세조류 배양 반응기(10)내의 공기분산용 격막(50)에 의하여 배양액 내에 와류가 형성되는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 11] 청구항 7에 있어서,
 상기 배양조건은 온도가 25°C로 유지되는 항온항습실에서 인공광원인 형광등으로부터 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광도가 조사되는 조건인 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물

- 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 12] 청구항 7에 있어서,
상기 미세조류 배양액은 세네데스무스 배양액인 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 13] 청구항 7에 있어서,
미세조류의 배양이 끝난 후, 응집제를 배양액에 첨가하고, 배양에 이용한 연소가스를 더 공급하여 배양액의 응집반응을 유도하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.
- [청구항 14] 청구항 13에 있어서,
상기 응집제로서 CaCl_2 와 FeCl_3 를 동시에 첨가하는 것을 특징으로 하는 미세조류 고밀도 배양용 광생물 반응기를 이용한 미세조류 배양 및 수확 방법.

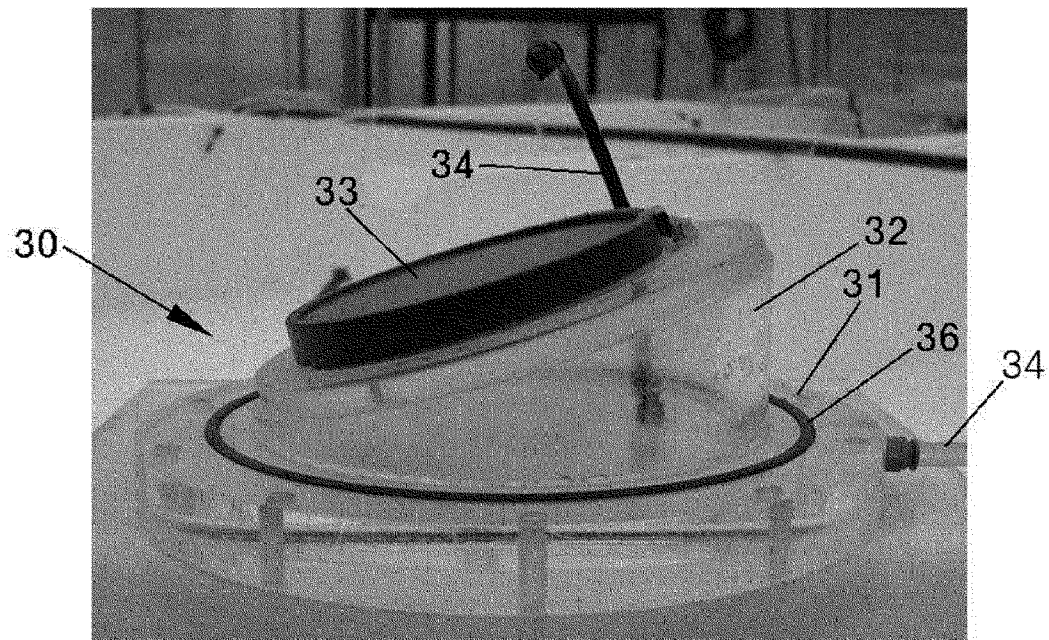
[Fig. 1]



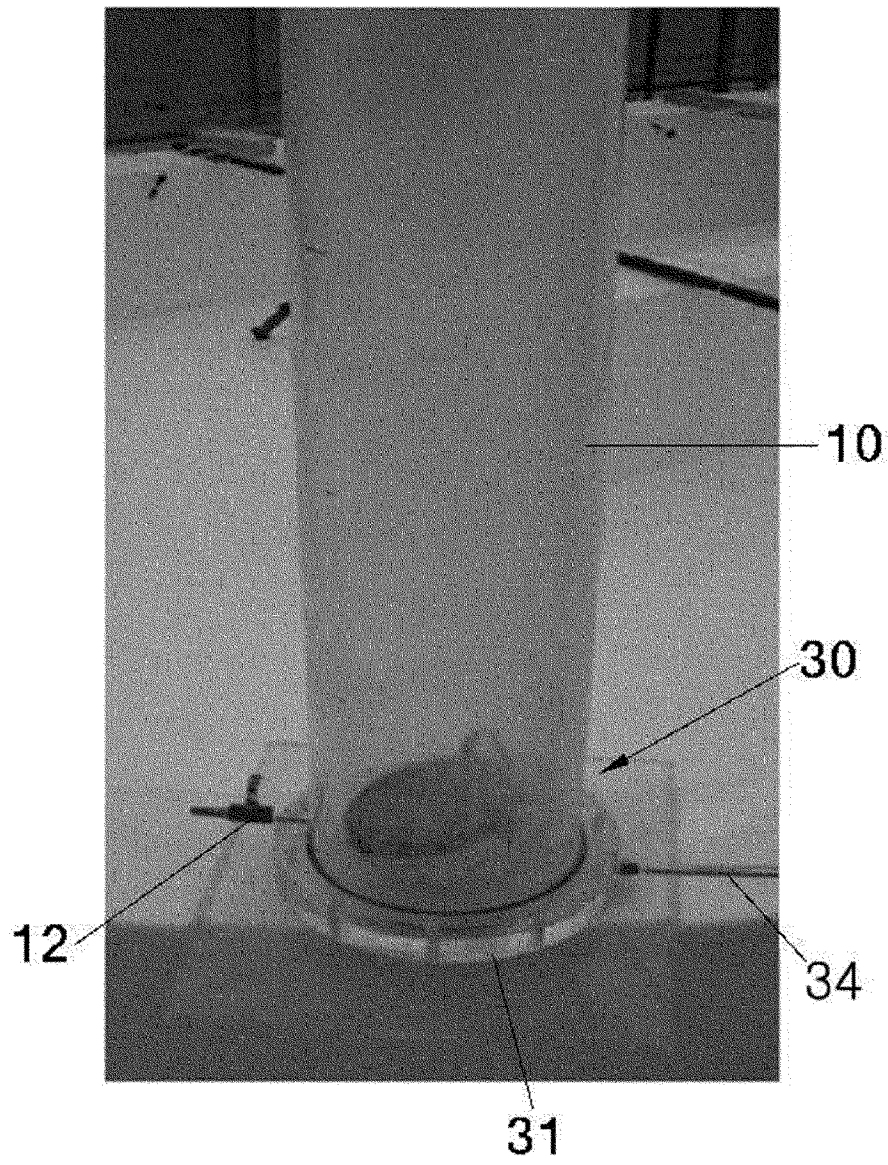
[Fig. 2]



[Fig. 3]



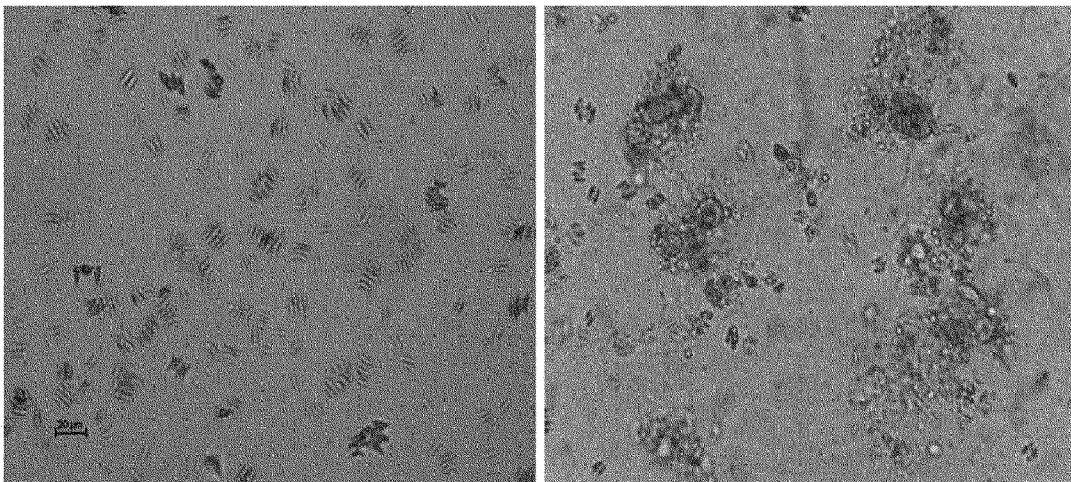
[Fig. 4]



[Fig. 5]



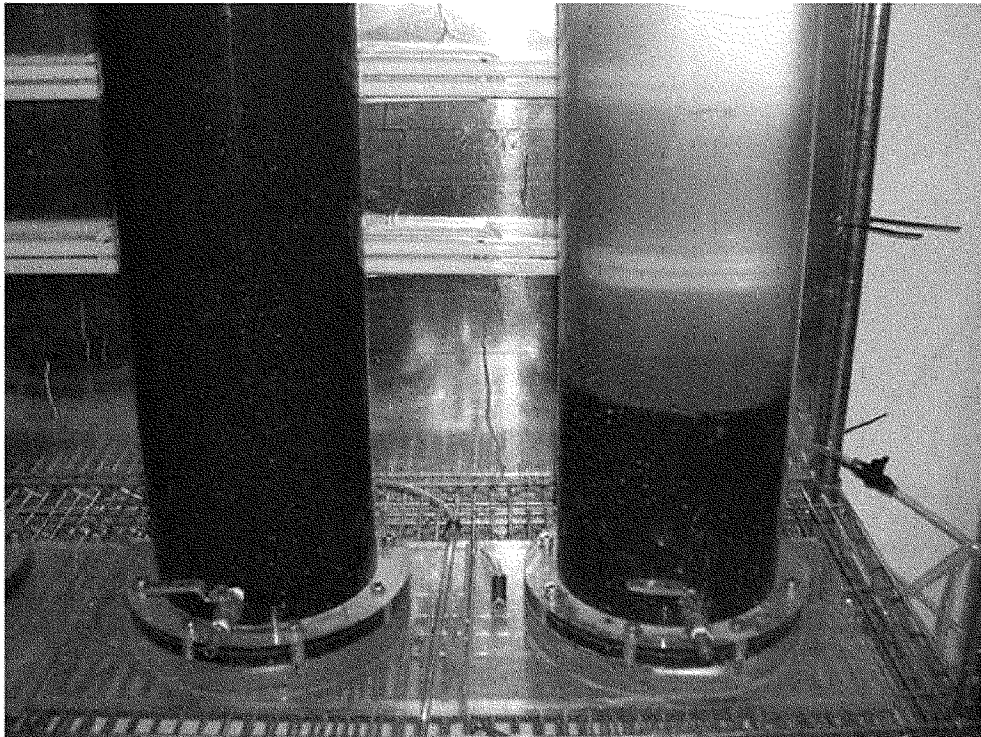
[Fig. 6]



(a)

(b)

[Fig. 7]



[Fig. 8]

