

화학응집제를 이용한 미세조류의 응집 특성

권도연¹, 정창규¹, 박광범¹, 이철균², 이진원^{1*}

Flocculation Characteristics of Microalgae Using Chemical Flocculants

Doyeon Kwon¹, Changkyou Jung¹, Kwangbeom Park¹, Choul-Gyun Lee², and Jinwon Lee^{1*}

접수: 2011년 2월 17일 / 게재승인: 2011년 4월 11일
© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: The aim of the study was to optimize harvesting method for concentrating microalgae from microalgae mass culture. It is well known that the mass density of microalgae is usually very low and these are small size (5-20 μm) in the culture medium. It is essential that microalgae is harvested and concentrated economically for economical biodiesel production from microalgae. In this study, to determine optimized conditions for microalgae harvesting by chemical flocculation. Flocculation of three algae, *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil*, and *Dunaliella tertiolecta*, was performed using various chemical flocculants, such as inorganic flocculants (aluminium sulfate, aluminium potassium sulfate, ferrous sulfate, ferric sulfate, ferric chloride, calcium hydroxide, sodium carbonate, sodium nitrite, and sodium aluminate), organic flocculant (polyacrylamide), and biopolymer flocculants (chitosan and starch). The results indicated that aluminium based inorganic flocculants is suitable for microalgae harvesting such as *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil*, and *Dunaliella tertiolecta*. The results also recommended that flocculant doses, agitation speed, agitation time, sedimentation time for economical microalgae harvesting method using chemical flocculants.

Keywords: microalgae, *Chlorella*, *Dunaliella*, biodiesel, flocculation, harvest

1. 서론

전 세계적으로 소비되는 에너지의 대부분은 석유, 석탄, 천연 가스와 같은 화석연료에 의해 공급되고 있다. 그러나 현재 기술로써 채취할 수 있는 한정적인 원유 가채량과 원유 가격의 급등, 그리고 화석연료 연소 시 발생하는 이산화탄소는 지구온난화로 인한 기후변화라는 심각한 문제를 가져왔다. 따라서 세계 각국에서는 이미 재생 가능한 대체 에너지 개발을 위한 연구를 수행 중에 있다 [1-3]. 우리나라에서도 풍력 에너지, 태양광 에너지, 지열 에너지, 바이오 에너지 등에 대한 연구를 정부의 지원 아래 연구소, 기업, 학교에서 수행하고 있다.

특히, 바이오 에너지에는 바이오 디젤, 바이오 에탄올, 바이오 수소 등이 있고, 일부 국가에서는 현재 바이오 디젤과 바이오 에탄올을 자동차 엔진에 주입하여 사용하고 있다 [4-6]. 이러한 바이오 에너지의 출발은 옥수수, 사탕수수, 콩, 유채유와 같은 “1세대 바이오 매스”의 이용이었다. 하지만 이것은 식량 자원으로서 바이오 매스의 가격 급등을 불러 일으켰다. 또한, 작물 재배 시 필요한 토양은 현재의 에너지 수요를 충족시키기에는 부족하다 [7]. 바이오 디젤 가격의 60~75%가 공급원료 가격에 의존하기 때문에 경쟁력 있는 공급 원료 개발이 필요하다 [7].

따라서 재배 면적과 바이오 매스 자원이 부족한 우리나라에서는 바이오 에너지 원료의 다변화가 절실하기 때문에 가장 넓은 면적을 차지하고 있는 해양으로 많은 관심을 가지고 있다. 해양 미세조류는 “1세대 바이오 매스”에 비하여 재배 면적 당 높은 에너지 수율을 가지고 있고, 경작할 수 있는 지대를

¹서강대학교 화공생명공학과

¹Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Sogang University, Seoul 121-742, Republic of Korea
Tel: +82-2-705-8919, Fax: +82-2-705-8630
e-mail: jinwonlee@sogang.ac.kr

²인하대학교 생명공학과

²Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Republic of Korea

필요로 하지 않는다 [8]. 또한 미세조류는 단순한 성장조건을 가지고 있다. 폐수에서도 햇빛, CO₂, 그리고 무기영양소를 이용하여 성장할 수 있는 장점이 있다 [9].

이러한 미세조류로부터 바이오 디젤을 생산하기 위해서는 먼저 물 속에서 미세조류를 배양 한 뒤 오일 추출, 바이오 디젤 전환에 앞서 수확 및 농축 하는 단계가 필요하다. 이것은 전체적인 바이오 매스 생산 가격의 20~30%를 차지하는 것으로 알려져 있다 [7]. 따라서 미세조류를 경제적으로 수확하는 방법을 연구 개발할 필요가 있다. 미세조류를 수확하는 방식으로는 원심분리 (Centrifugation), 중력에 의한 침강 (Gravity sedimentation), 부유 (Flotation), 여과 (Filtration) 그리고 응집 (Flocculation)법들이 있다 [11].

응집제의 원리는 물 속에서 콜로이드 상태로 있는 미세조류들은 정전기적 반발력 (electrostatic repulsion)에 의하여 움직이는데 첨가한 응집제는 물 속에서 미세조류의 세포벽이 지닌 정전기적 전하 (Charge)에 반대되는 전하를 지니고 있다. 그리고 DLVO 이론에 근거하여 응집제는 미세조류 사이의 정전기적 반발력을 감소 또는 중성으로 만든 뒤 Van der Waals 힘에 의하여 응집제와 미세조류는 응집 덩어리 (Flocs)를 형성한다. 그리고 밀도와 부피가 증가한 응집 덩어리들은 바닥으로 가라 앉는다. 그리고 물을 제거하여 농축된 바이오 매스를 얻을 수 있다 [12].

미세조류의 종류와 특성이 다양하기 때문에 아직까지는 보편적인 수확 방법이 개발 되어 있지 않은 상태이다. 따라서 본 연구에서는 다양한 고-액 분리 공정에서 사용하는 화학 응집제를 이용하여 연구개발이 필요한 해양 미세조류인 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil* 그리고 *Dunaliella tertiolecta*를 경제적으로 수확하는 방법을 연구개발 하였다.

응집제의 분자량, 응집제의 전하밀도, 응집제의 양, 미세조류의 농도, 반응 시 이온 강도, pH, 전단응력이 응집에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다 [7]. 하지만 아직까지 교반 속도, 교반 시간 그리고 침강 시간이 응집에 미치는 영향을 연구한 논문은 찾아볼 수 없었다. 따라서 본 연구에서는 경제적인 요소인 교반 속도, 교반 시간 그리고 침강시간이 미치는 영향을 살펴보는 연구개발도 동시에 함께 수행하였다.

본 연구에서는 응집을 위하여 다음과 같은 종류의 응집제들을 선택하였다. 유기고분자 응집제로 Polyacrylamide를 사용하였고 무기 응집제로 Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Ferrous sulfate, Ferric sulfate, Ferric chloride, Calcium hydroxide, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Sodium aluminate를 사용하였으며, 생분해성 고분자 응집제로 Chitosan, Starch를 사용하였다. 특히, Chitosan과 Starch는 자연 분해된다는 친환경적인 이점이 있다 [13,14]. 위에서 열거한 응집제들을 사용하여 해양 미세조류인 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil* 그리고 *Dunaliella tertiolecta* 배양액으로부터 각각의 미세조류를 경제적으로 수확하는 방법을 연구개발 하였다.

응집방법에 따른 미세조류 응집을 확인하기 위해 UV/vis spectrophotometer를 이용하였다. 각 미세조류의 최대 흡수 파장에서 흡광도 (Optical density)를 측정 후 흡광도 (OD)와 미세조류 농도 간의 관계를 구함으로써 응집에 따른 상등

액 미세조류의 농도변화를 간접적으로 측정하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 미세조류 및 시약

실험에 사용한 미세조류의 종류는 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil* 그리고 *Dunaliella tertiolecta*로서 (주)클로렌드로부터 구입하였다. 배양액의 농도는 Beer-Lambert한계를 고려해서 배양액의 흡광도 (Optical Density 이하 OD로 표기)를 1 이하로 희석시킨 뒤 사용하였다.

앞에서 언급했던 것처럼 사용한 응집제는 크게 무기, 유기, 생분해성 고분자 응집제로 나눌 수 있는데 Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Ferrous sulfate, Ferric sulfate, Ferric chloride, Calcium hydroxide, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Sodium aluminate, Polyacrylamide, Chitosan, Starch로 Samchun chemical (Gyeonggi-do, Korea) 과 Sigma-Aldrich Korea (St. Louis, MO, USA), Kanto Chemical (Tokyo, Japan)제품을 구입하여 사용하였다.

2.2. 화학응집 방법

모든 실험은 상온 (25°C)에서 실시하였으며 250 mL 삼각 플라스크에 200 mL의 미세조류 배양액을 주입 하였다. 응집제를 첨가한 후 10 sec동안 180 rpm으로 빠르게 교반하여 응집제가 배양액 각 부분에서 농도가 일정 하도록 섞어 주었다.

그리고 10 min동안 80 rpm에서 천천히 교반을 시켜줌으로써 응집제와 미세조류간 반응이 일어나게 했다. 단, 교반 속도 (Agitation speed)의 영향을 보는 실험에서는 교반 속도를 50 rpm, 80 rpm, 130 rpm, 180 rpm으로 다르게 설정 하였다. 마찬가지로 교반 시간 (Agitation time)의 영향을 알아보는 실험에서는 교반 시간을 10 min, 20 min, 30 min, 40 min으로 다르게 설정하였다.

마지막으로 반응 후에 교반을 중지시키고 10 min 동안 상온에서 침전시켰다. 단, 침전시간 (Sedimentation time)의 영향을 보기 위한 실험에서는 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min으로 다르게 설정하였다.

2.3. 응집 정도 측정 방법

미세조류의 농도를 UV/vis spectrophotometer (Shimadzu BioSpec-mini, Japan)를 이용해서 Beer-Lambert의 법칙에 의하여 분광학적인 방법으로 측정하였다. 응집 전에 미세조류 배양액의 수면으로부터 3 cm 아래에서 상등액을 채취하여 UV/vis spectrophotometer를 이용해서 흡광도 (OD)를 확인했다. 그 뒤 미세조류 배양액에 응집제를 첨가하여 반응시켜 침전시킨 후 응집제 첨가 전과 마찬가지로 수면으로부터 3 cm 아래 상등액을 채취한 후 UV/vis spectrophotometer를 이용해서 흡광도 (OD)를 확인했다. 응집 전, 후의 흡광도 (OD)로부터 미세조류 농도를 결정하였다. 이 때, 미세조류 종류별로 *Chlorella ellipsoidea*의 파장은 750 nm로 *Dunaliella bardawil*과 *Dunaliella tertiolecta*의 파장은 640 nm에서 흡광도 (OD)를 측정하였다. 그리고흡광도 (OD)와 미세조류

농도간의 선형적인 관계식에 의하여 농도로 환산한 후 응집 정도를 응집 효율로 정의 하여 다음과 같은 식에 의해서 계산하였다 [15].

$$\text{Flocculation efficiency (\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

여기서 A: 응집 후 수면으로부터 3 cm 아래에 있는 상등액의 미세조류 농도, B: 응집 전 수면으로부터 3 cm 아래에 있는 상등액의 미세조류 농도

3. 결과 및 고찰

3.1. 응집제 종류에 따른 응집 영향

미세조류 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil*, *Dunaliella tertiolecta* 배양액에 화학 응집제 종류 별로 응집제 양을 0.5 g/L로 하여 동일하게 첨가하였다. Fig. 1(a)에서 볼 수 있듯이 *Chlorella ellipsoidea* 배양액에 화학 응집제들을 0.5 g/L를 첨가하였을 때 Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Ferric sulfate, Ferric chloride, Chitosan 과 같은 응집제들은 70% 이상의 응집 효율을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

생분해성이라는 환경친화적인 장점을 지닌 Chitosan의 응집제로서의 역할은 이전의 연구 결과들을 만족한다 [17-20]. 그러나 이 외의 ferrous sulfate, calcium hydroxide, sodium carbonate, sodium nitrite, sodium aluminate, polyacrylamide 그리고 Starch는 거의 반응을 보이지 않았다. 이 결과들은 철과 알루미늄을 바탕으로 하는 응집제들이 표면 전하를 중화하거나 감소시켜 응집 효과를 나타낸다는 이전 결과와 상응한다 [7,16]. 특히, Ferric sulfate는 Ferric sulfate와 Ferric chloride와 같은 철을 포함하고 있음에도 불구하고 응집이 잘 일어나지 않았다. 이러한 결과는 아마도 미세조류 응집반응이 정전기적 반발력 중성 및 감소에 기인한 것으로 보인다. 즉, Ferric sulfate의 경우는 철 (II) Fe²⁺를 포함하는 반면에 Ferric sulfate와 Ferric chloride는 철 (III) Fe³⁺를 포함하기 때문에 정전기적 반발력을 중성 및 감소시키는 전하량이 더욱 크고 따라서 더욱 높은 응집 효율을 가져온 것으로 보인다.

Fig. 1(b)에서 볼 수 있듯이 *Dunaliella bardawil* 경우에는 미세조류 배양액에 응집제들을 첨가하였을 때 0.5 g/L 농도에서 어떠한 응집제들도 배양액에 응집 반응을 보이지 않았다. 따라서 이어지는 실험에서는 응집제의 양을 증가시켰다.

Fig. 1(c)에서 볼 수 있듯이 *Dunaliella tertiolecta* 경우에는 미세조류 배양액에 0.5 g/L 양의 응집제들을 첨가하면, Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Sodium aluminate 80% 정도의 높은 응집 효율을 보였으며, Ferric sulfate, Ferric sulfate, Ferric chloride, Calcium hydroxide, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Chitosan, starch, Polyacrylamide 응집제들은 60% 이하의 응집 효율을 보였다. 따라서 *Dunaliella tertiolecta* 경우는 응집제의 종류로 알루미늄 계열의 응집제를 사용할 필요성이 있다는 결론을 내릴 수 있다.

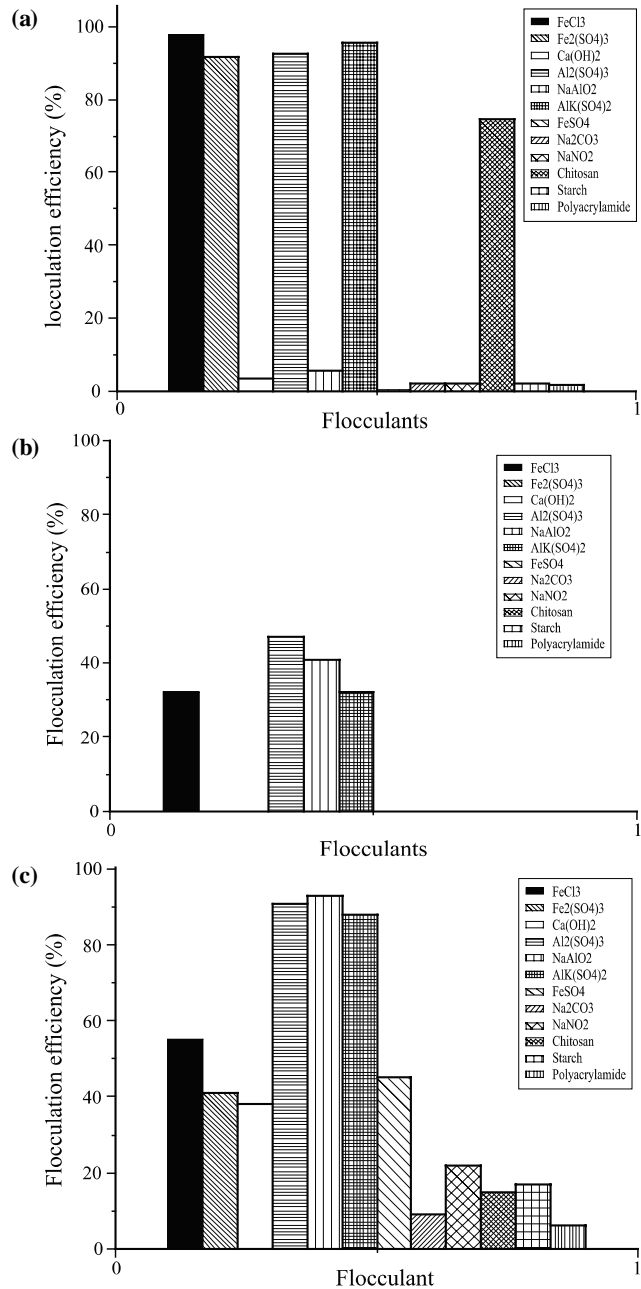


Fig. 1. (a) Flocculant concentration on the microalgae flocculation efficiency: (a) *C. ellipsoidea* (b) *D. bardawil* (c) *D. tertiolecta*.

3.2. 응집제 농도에 따른 미세조류 응집 영향

미세조류 배양액에 첨가하는 화학 응집제의 농도를 변화시켰을 때 응집 효율을 알아보았다.

Chlorella ellipsoidea 경우는 응집제들은 0.125~0.5 g/L로 먼저 실험보다 양을 줄여서 실험을 진행하였다. Fig. 2(a)에서 볼 수 있듯이 응집 효율이 좋았던 Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Ferric sulfate, Ferric chloride는 80% 응집 효율을 유지하였다.

하지만 Fig. 2(b)에서 볼 수 있듯이 생분해성 Chitosan의 경우에는 응집제의 양이 0.5 g/L 이상 증가 시킬 때부터 응집이 일어났다. 반면에 Calcium hydroxide와 Sodium aluminate

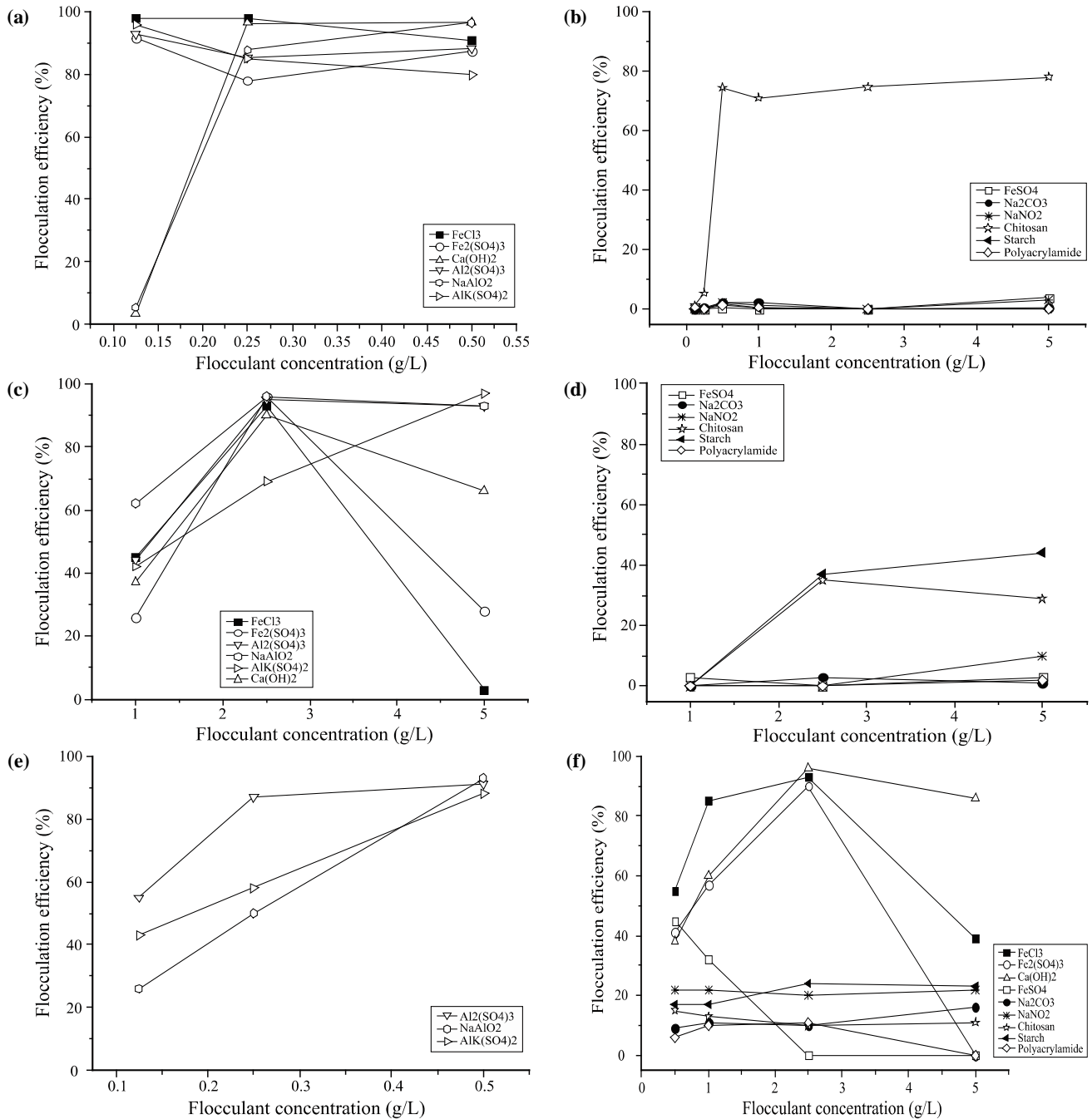


Fig. 2. Flocculant concentration on the microalgae flocculation efficiency: (a) using a small amount of flocculant on the *C. ellipsoidea* (b) using a large amount of flocculant on the *C. ellipsoidea* (c) using a large amount of flocculant on the *D. bardawil* (d) little or no flocculation efficiency using a large amount of flocculant on the *D. bardawil* (e) using a small amount of flocculant on the *D. tertiolecta* (f) using a large amount of flocculant on the *D. tertiolecta*.

의 경우는 80%로 0.25 g/L까지 응집 효율을 유지하다가 0.125 g/L를 사용하였을 때 응집이 일어나지 않았다. 그러나 Fig. 2(b)에서 Chitosan을 제외한 나머지 Ferrrous sulfate, Sodium carbonate, Sodium Nitrite, Starch, Polyacrylamide는 응집제 양을 증가시켜도 응집방법 조건에서 반응이 일어나지 않음을 확인할 수 있었다.

*Dunaliella bardawil*의 경우는 Fig. 2(c)에서 볼 수 있듯

이 첨가한 응집제 양이 0.5 g/L보다 더 많을 때 응집이 시작되었다. 미세조류 *Chlorella ellipsoidea*와 마찬가지로 응집제 Ferric chloride, Ferric sulfate, Calcium hydroxide, Aluminium sulfate, Sodium aluminate, Aluminium potassium sulfate가 높은 응집 효율을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 특히, Fig. 2(c)에서 볼 수 있듯이 Aluminium potassium sulfate를 제외한 위의 응집제들은 2.5 g/L양의 응집제를 첨가

하였을 때 가장 높은 응집 효율을 경향을 보였다. 따라서 같은 조건에서 이것들에 대한 최적의 응집제 양이 2.5 g/L로 결론 내릴 수가 있다. 그러나 Fig. 2(d)에서 볼 수 있듯이 Ferrous sulfate, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Chitosan, Starch, Polyacrylamide는 응집제 양을 증가시켜도 응집이 약간 일어나긴 했지만 40% 이하의 응집 효율을 보였다. 따라서 *Dunaliella bardawil*에 대하여 적합한 응집제 종류가 아님을 결론 내릴 수 있었다.

Dunaliella tertiolecta 미세조류에 소량의 응집제들을 첨가하면, Fig. 2(e)에서 볼 수 있듯이 Aluminium sulfate, Sodium aluminate, Aluminium potassium sulfate의 응집제들이 0.5 g/L에서 높은 응집 효율을 보였다. 따라서 응집 방법 조건하에서 위 응집제들을 0.5 g/L로 사용하는 것이 최적의 양으로 결론 내릴 수 있었다. Fig. 2(f)에서 볼 수 있듯이 Ferric chloride, Ferric sulfate, Calcium hydroxide, Ferrous sulfate, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Chitosan, Starch, Polyacrylamide 응집제들은 소량을 첨가하였을 때 반응을 보이지 않았고 Ferric chloride, Ferric sulfate, Calcium hydroxide는 점차 응집이 증가하다가 응집제의 양을 5.0 g/L로 하였을 때 응집이 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 Ferrous sulfate의 경우 0.5 g/L에서만 반응을 보였지만 응집 경향이 크게 나타나지 않았으며 양을 증가시킬수록 점차 효율이 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 응집제 Sodium carbonate, Sodium nitrite, Chitosan, Starch, Polyacrylamide는 응집제 양을 증가시켜도 커다란 응집 효율 변화를 볼 수 없었다.

결론적으로 응집제 종류와 양에 대하여 다음과 결론을 내릴 수 있었다. 응집제 양을 점차 증가시킬수록 응집 효율이 상대적으로 증가하다가 감소하는 경향을 보였으며, 알루미늄 계열 응집제가 응집 대상이었던 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil* 그리고 *Dunaliella tertiolecta*에 대하여 상대적으로 높은 응집 효율을 보였다.

3.3. 교반속도에 따른 미세조류 응집 영향

앞선 실험을 통하여 응집 효율이 높은 응집제들을 다음과 같이 선택하여 실험을 진행하였다. 사용한 응집제는 다음과 같다. Ferric chloride, Ferric sulfate, Calcium hydroxide, Aluminium sulfate, Sodium aluminate, Aluminium potassium sulfate이다.

각각의 응집제와 미세조류 *Chlorella ellipsoidea*를 교반시킬 때 교반속도 (Agitation speed)가 응집 효율에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 실시하였다. 응집제와 미세조류가 반응하는 단계에서 10 min 간 교반속도를 50 rpm, 80 rpm, 130 rpm, 180 rpm으로 변화를 주어 영향을 확인 했다.

Fig. 3에서 볼 수 있듯이 교반속도를 50 rpm에서 80 rpm으로 변화를 주었을 때 응집 효율에 약간의 증가가 있었지만 80 rpm부터 180 rpm까지 증가 시켰을 때는 크게 응집 효율 변화를 확인할 수가 없었다. 그러나 Calcium hydroxide와 Aluminium sulfate는 80 rpm에서 응집 효율이 최적임을 보였다 따라서 80 rpm으로 하는 것이 최적이라는 결론을 내릴 수 있었다.

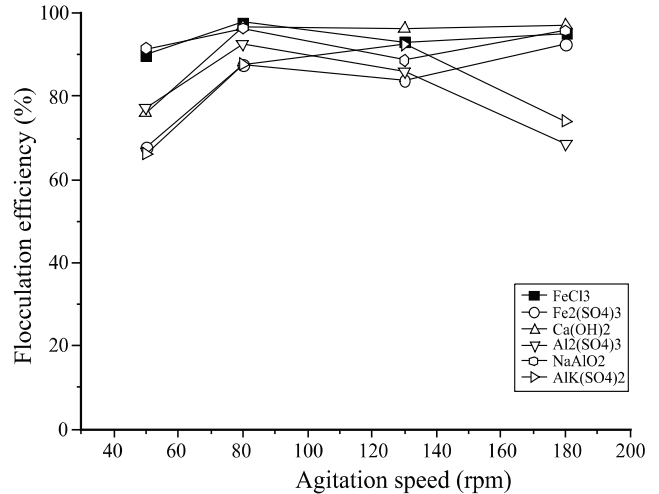


Fig. 3. Agitation speed on the flocculation efficiency.

3.4. 교반시간에 따른 미세조류 응집 영향

교반시간 (Agitation time)에 따른 미세조류 응집 영향 실험과 마찬가지로 응집제의 종류와 농도 실험결과로부터 Ferric chloride, Ferric sulfate, Calcium hydroxide, Aluminium sulfate, Sodium aluminate, Aluminium potassium sulfate를 응집제로서 사용하였다. 이들을 가지고서 미세조류인 *Chlorella ellipsoidea* 응집에 교반시간이 미치는지 영향을 조사해 보았다.

Fig. 4에서 볼 수 있듯이 교반시간을 변화시켰을 때 응집 효율의 변화를 거의 확인할 수 없었다. 따라서 교반시간이 응집 효율에 영향을 미치는 주요 인자가 아니며 본 실험조건에서 10 min으로 교반시간을 해주는 것이 경제적으로 적절하다는 결론을 내릴 수 있다.

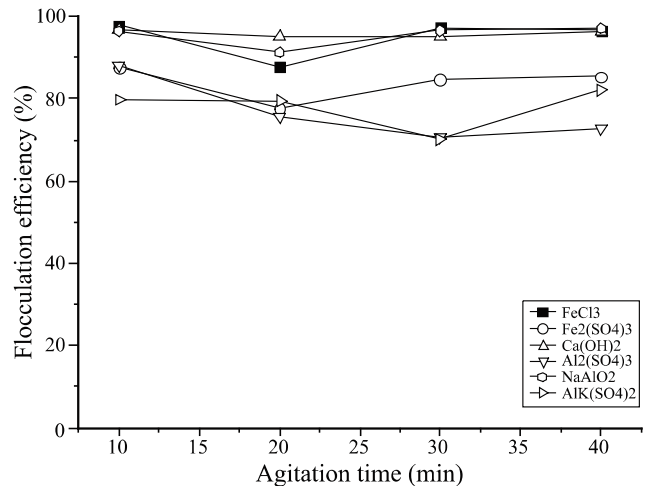


Fig. 4. Agitation time on the flocculation efficiency.

3.5. 침전시간에 따른 미세조류 응집 영향

각각의 응집제에 대해서 미세조류 *Chlorella ellipsoidea*를 응집제 농도와 침전시간 (Sedimentation time)과의 관계를 Table 1에서 볼 수 있듯이 알아보았다.

Ferric chloride 농도가 0.125 g/L, 0.25 g/L 일 때가 0.5 g/L

사용했을 때 보다 침전시간을 10 min으로 하였을 때 약 7.8% 높았다. 반면에 침전시간을 20 min으로 하였을 때 각각 98.7%, 99.2%의 최대 응집 효율을 보이며 큰 차이가 없었다. 따라서 Ferric chloride의 경우는 0.125 g/L를 사용하며 20 min으로 침전시간을 두는 것이 최적이라고 결론 내릴 수 있다.

Table 1. Sedimentation time on the microalgae flocculation efficiency

Flocculant concentration (g/L)	Flocculants	Sedimentation time (min)				
		10	20	30	40	50
0.125	FeCl ₃	97.8 ^{a)}	99.2	92.4	99.2	94
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	0.125	92.2	88.1	78.4	86.7
	Ca(OH) ₂	3.4	7.5	7.7	9.8	15.7
	Al ₂ (SO ₄) ₃	92.6	95	94.2	92.5	94
	AlK(SO ₄) ₂	96	94	67	65	60
	NaAlO ₂	6.4	11	12.8	13.7	13.8
0.25	FeCl ₃	97.9	99.2	98	98.3	97.7
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	77.9	98	68.3	88.3	75
	Ca(OH) ₂	96.3	90.6	95.7	98.3	98.4
	Al ₂ (SO ₄) ₃	85.2	94.3	88	94.8	89.8
	AlK(SO ₄) ₂	94	96	78	74	68
	NaAlO ₂	87.7	78.1	93.6	94	87.3
0.5	FeCl ₃	90.7	98.7	95.5	95.9	97.6
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	87.4	89.8	89.5	78.3	88.7
	Ca(OH) ₂	96.6	99.7	100	97.4	88.5
	Al ₂ (SO ₄) ₃	89.2	89.9	90.2	91.6	92
	AlK(SO ₄) ₂	97.2	99.4	99.9	100	100
	NaAlO ₂	96.4	98.8	98.8	94.1	94

a) flocculation efficiency [%].

Ferric sulfate의 경우는 응집제 농도에 따라서 최대 약 8.9%의 응집 효율 차이를 보였다. 그리고 응집제 농도에 관계없이 20 min에서 최대 응집 효율을 보였다. 따라서 Ferric sulfate의 경우 0.25 g/L의 농도로 20 min동안 침전시켰을 때 최고 응집 효율을 보였다.

Calcium hydroxide의 경우는 0.125 g/L에서 응집이 잘 일어나지 않았지만 응집은 침전시간이 길수록 증가함을 볼 수 있다. 이것은 중력에 의한 침강으로 인한 것으로 생각할 수 있다. 응집제 농도를 0.25 g/L, 0.5 g/L로 증가시켰을 때 응집 효율이 88.5 이상으로 응집이 잘 일어났으며 특히 응집제 농도 0.5 g/L, 침전시간 30 min에서 100%라는 최고의 응집 효율을 보였다. 하지만 같은 농도에서 침전시간이 30 min을 지나서는 응집 효율이 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

Aluminium sulfate의 경우는 응집제 농도가 0.125 g/L에서는 침전시간에 관계없이 90% 이상의 응집 효율을 보였다. 그리고 응집 효율은 0.125 g/L, 침전시간 20 min에서 95%로 최고로 높았다. 반면에 응집제 농도를 0.25 g/L와 0.5 g/L 사용하였을 때 응집 효율이 0.125 g/L 사용했을 때 보다 더 낮았으며 0.25 g/L의 경우 침전시간에 따라서 증가와 감소를 반복하는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 0.25 g/L 이상 사용했을 때 배양액 내 증가한 알루미늄 이온 (Aluminium ion)과 황산 이온 (Sulfate ion)의 영향이 미세조류 응집을 불안정하게 하는 것으로 보인다.

Aluminium potassium sulfate의 경우 응집제 농도가 0.125 g/L, 0.25 g/L에서 10~20 min 간 응집이 일어났다가 침전시간이 증가할수록 응집 효율이 떨어지는 것을 확인할 수 있으며 반면에 0.5 g/L에서는 침전시간에 따라서 응집 효율이 증가하여 40 min에서는 최고인 100%에 도달함을 볼 수 있다. 이것은 아마도 aluminium sulfate와 비교해 보았을 때 응집제 농도가 0.125 g/L, 0.25 g/L인 경우 포타슘 이온 (potassium ion)에 의하여 미세조류의 일부에 응집이 일어났다가 포타슘 이온 (potassium ion)이 시간이 지나면서 황산 이온 (sulfate ion)과 다시 결합을 형성함으로써 일부 미세조류가 응집 전 상태로 돌아왔으며, 0.5 g/L인 경우는 미세조류 응집이 증가한 알루미늄 이온 (Al³⁺)에 의하여 전부 일어났고 포타슘 이온 (Potassium ion)에 의한 일시적인 응집은 일어나지 않는 것으로 보인다. 따라서 침전시간이 증가할수록 응집 효율이 감소하지 않는 것으로 보인다.

Sodium aluminate의 경우 응집제 농도가 0.125 g/L였을 때 침전시간에 관계없이 응집이 거의 일어나지 않았으며 침전시간에 따라서 응집 효율이 조금씩 증가하는 것은 중력에 기인한 것으로 보인다. 농도를 증가 시킴에 따라서 응집 효율도 증가하였으며 응집제 농도 0.5 g/L, 침전시간 20 min에서 98.8%라는 최적의 응집 효율을 얻을 수 있었다.

전반적으로 침전시간이 증가할수록 응집 효율이 증가하지만 크게 증가한다고 볼 수 없으며 일부는 가역적인 응집으로 분산으로 되돌아가는 경우도 있었다. 따라서 미세조류와 응집제의 응집을 위한 침전시간은 경제적으로 10 min이면 충분하다는 결론을 내릴 수 있다.

또한, calcium hydroxide, sodium aluminium sulfate의 경우 침전시간이 증가함에 따라 응집 효율도 증가하지만 이것은 중력에 의한 것이지 응집제의 효과로 볼 수 없다. 하지만 응집제 농도가 0.25 g/L 이상일 경우 응집 효율이 78% 이상으로 나타났다. 따라서 이들 응집제 대한 응집이 일어나기 위한 임계 농도가 존재한다고 결론 내릴 수 있다. 그런데 aluminium potassium sulfate의 경우는 0.125 g/L와 0.25 g/L에서 침전시간이 20 min이후 부터는 응집 전 (분산)상태로 일부 미세조류가 돌아가는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 calcium hydroxide, sodium aluminium sulfate와 달리 포타슘 이온 (potassium ion)에 의하여 일어났던 응집 반응은 가역적인 반응으로 응집 전 (분산)상태로 되돌아간 것으로 보인다. 그러므로 응집제 농도가 낮은 범위에서 침전시간이 길어지면 일부 미세조류가 응집 전 (분산) 상태로 되돌아가는 가역적인 반응을 보였다. 따라서 포타슘 이온 (potassium ion)에 의한 일시적인 미세조류 응집 가능성이 있으며 aluminium potassium sulfate 경우도 임계 농도가 존재한다고 결론을 내릴 수 있다.

4. 결론

해양 미세조류인 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil* 그리고 *Dunaliella tertiolecta*를 수확하기 위해서 Aluminium sulfate, Aluminium potassium sulfate, Ferrous sulfate, Ferric

sulfate, Ferric chloride, Calcium hydroxide, Sodium carbonate, Sodium nitrite, Sodium aluminate, Polyacrylamide, Chitosan, Starch를 응집제로 이용하여 연구를 수행 하였다. 이 때, 응집제 종류별, 응집제 양, 교반속도, 교반시간 그리고 침전 시간을 응집 인자로 하여 응집에 미치는 영향을 확인할 수 있었다.

해양 미세조류 중 (species), 속 (genus)에 따라서 응집시키는 응집제의 종류와 농도 (응집제 양)가 약간씩 차이를 보였으며 주요한 응집 인자임을 보였다. *Chlorella ellipsoidea*의 경우 알루미늄 계열, 제 2철 계열의 무기 응집제는 적은 응집제 양에서도 높은 응집 효율을 보였으며, chitosan의 경우는 응집이 일어나기 위해서 0.5 g/L 이상의 응집제 양이 필요하다는 것을 확인하였다. 뿐만 아니라, 철 계열 응집제의 경우 제1철 (ferrous iron)을 함유한 경우는 응집이 일어나지 않았지만 전하량이 더 큰 제 2철 (ferric iron)을 포함한 경우는 응집이 일어났다. 이것은 전하량이 응집에 영향을 미친다는 이론의 타당함을 입증한 것이다. *Dunaliella bardawil*의 경우는 응집제 양을 늘렸을 때 알루미늄과 철 계열의 응집제에 대하여 높은 응집 효율이 나타나는 것을 확인할 수 있었고 *Dunaliella tertiolecta*의 경우 알루미늄 계열에서 높은 응집 효율을 보였다. 따라서 본 연구에서 전반적으로 알루미늄 계열의 응집제가 높은 응집 효과를 가진다고 결론 내릴 수 있었다. 특히, 세 종류의 미세조류가 알루미늄 계열의 무기 응집제로 응집시킬 수 있다는 사실은 주목할 만하다. 이것은 앞서 설명한 응집 이론을 기반으로 하였을 때 알루미늄 이온 (aluminium ion)이 배양액 속에서 띠는 양성 (+)의 전하량 (Charge)을 제공할 경우 실험 대상이었던 *Chlorella ellipsoidea*, *Dunaliella bardawil*, *Dunaliella tertiolecta*를 응집제 없이도 응집시킬 수 있다는 가능성을 내포하고 있다.

그리고 교반속도와 교반시간이 응집 효율에 미치는 영향이 적다는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 실험 조건하에서 교반속도는 80 rpm으로 교반시간은 10 min으로 하는 것이 경제적이란 결론을 내릴 수 있다.

응집농도와 침전시간이 응집 효율에 미치는 영향을 알아보는 연구결과를 통해서서는 calcium hydroxide와 sodium aluminate의 경우 응집이 일어나기 위한 임계농도가 존재함을 확인할 수 있었다. 그리고 aluminium potassium sulfate의 경우는 10 min 이후부터 응집 후 응집의 반대방향 즉, 분산이 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 포타슘 이온 (potassium ion)에 의하여 가역적 응집이 일어나는 것을 확인할 수 있었다.

마지막으로 응집농도와 침전시간이 응집 효율에 미치는 실험결과로부터 응집이 일어나는 임계 농도에 따른 그리고 중력에 의해 일어나는 침전시간에 따른 영향이 존재하지만 임계농도 이상에서는 침전시간이 증가할수록 응집 효율이 증가 폭이 크지 않았다. 이것은 응집제의 양이 침전시간에 비해서 더욱 주요한 응집인자인 것을 나타낸다. 그리고 실험이 실시된 조건 하에서 침전시간을 10 min 으로 정하는 것이 경제적이란 결론 내릴 수 있었다.

본 연구결과는 미세조류로부터 바이오디젤 생산 시 필요한 수확 및 농축 단계에서 경제적인 화학 응집제 이용을 도모하여 미세조류 기반 바이오디젤 생산의 경쟁력을 향상시킬

것으로 보인다.

감사

본 연구는 국토해양부 소관 연구개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Brennan, L. and P. Owende (2010) Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustain. Energ. Rev.* 14: 557-577.
2. Sharif Hossain, A. B. M. and A. Salleh (2008) Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy. *Am. J. Biochem. Biotech.* 4: 250-254.
3. Szklo, A. and R. Schaeffer (2006) Alternative energy sources or integrated alternative energy systems? Oil as a modern lance of Peleus for the energy transition. *Energ.* 31: 2513-2522.
4. Junginger, M., T. Bolkesjø, D. Bradley, P. Dolzan, A. Faaij, J. Heinimö, B. Hektor, Ø. Leistad, E. Ling, M. Perry, E. Piacente, Frank, R. C., Y. Ryckmans, P. P. Schouwenberg, B. Solberg, E. Trømborg, A. da S. Walter, and M. de Wit (2008) Developments in international bioenergy trade. *Biomass Bioenerg.* 32: 717-729.
5. Harun, R., M. Davidson, M. Doyle, R. Gopiraj, M. Danquah, and G. Forde (2011) Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility. *Biomass Bioenerg.* 35: 741-747.
6. Li, Y., M. Horsman, N. Wu, Christopher Q. Lan, and Nathalie D. C. (2008) Biofuels from Microalgae. *Biotechnol. Prog.* 24: 815-820.
7. Grima, E. M., E. H. Belarbi, F. G. A. Fernandez, A. R. Medina, and Y. Chisti (2003) Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.* 20: 491-515.
8. Canakci, M. and H. Sanli (2008) Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35: 431-441.
9. Raja, R., S. Hemaiswarya, N. A. Kumar, S. Sridhar, and R. Rengasamy (2008) A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Crit. Rev. Microbiol.* 34: 77-88.
10. Dismukes, C. G., D. Carrieri, N. Bennette, G. M. Ananyev, and M. C. Posewitz (2008) Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 235-240.
11. Uduman, N., Y. Qi, M. K. Danquah, G. M. Forde, and A. Hoadley (2010) Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *J. Renew. Sustain. Energ.* 2: 012701.
12. Somasundaran, P. and T. Hubbard (2006) *Encyclopedia of surface and colloid science*. 2nd ed., pp. 2588-2591. CRC Press, Taylor & Francis Group, NY, USA.
13. Divakaran, R. and V. N. Sivasankara Pillai (2002) Flocculation of algae using chitosan. *J. Appl. Phycol.* 14: 479-422.
14. Vandamme, D., I. Foubert, B. Meesschaert, and K. Muylaert (2010) Flocculation of microalgae using cationic starch. *J. Appl. Phycol.* 22: 525-530.

15. Oh, H. M., S. J. Lee, M. H. Park, H. S. Kim, H. C. Kim, J. H. Yoon, G. S. Kwon, and B. D. Yoon (2001) Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp. AM49. *Biotechnol. Lett.* 23: 1229-1234.
16. Golueke, C. G. and W. J. Oswald (1965) Harvesting and Processing Sewage-Grown Planktonic Algae. *J. Water Pollut. Contr.* 37: 471-498.
17. Lubián, L. M. (1989) Concentrating cultured marine microalgae with chitosan. *Aquacul. Engineer.* 8: 257-265.
18. Morales, J., J. de la Noüe, and G. Picard (1985) Harvesting marine microalgae species by chitosan flocculation. *Aquacul. Engineer.* 4: 257-270.
19. Gualtieri, P., L. Barsanti, and V. Passarelli (1988) Chitosan as flocculant for concentrating *Euglena gracilis* cultures. *Ann. Inst. Pasteur. Microbiol.* 139: 717-726.
20. Lertsutthiwong, P., S. Sutti, and S. Powtongsook (2009) Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. *Aquacul. Engineer.* 41: 188-193.