



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년01월06일
(11) 등록번호 10-1582045
(24) 등록일자 2015년12월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C10G 3/00 (2006.01) C07C 67/03 (2006.01)
C11B 1/10 (2006.01) C11C 3/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0086733
(22) 출원일자 2014년07월10일
심사청구일자 2014년07월10일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020130014091 A*
KR1020110096377 A*
KR100983023 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
강릉원주대학교산학협력단
강원도 강릉시 죽헌길 7(지변동)
(72) 발명자
염승호
강원도 강릉시 하평길 41, 103동 702호(포남동, 청송아파트)
박흥기
강원도 강릉시 강릉대로469번길 14, 1004호 (포남동, 대인4차아파트)
권민희
강원도 동해시 대학로 31, 3동 603호(천곡동, 삼성아파트)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 김길수

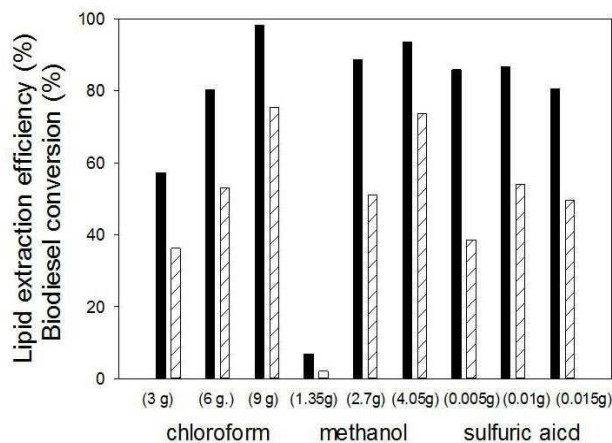
(54) 발명의 명칭 미건조 미세조류로부터 바이오디젤의 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 미건조 미세조류를 이용한 바이오디젤의 제조 방법에 관한 것으로, 젖은 미세조류로부터 직접 1 단계법을 이용하여 바이오디젤을 제조하되, 건조 미세조류를 이용한 방법에 비해 고체 흡착제를 추가로 투입하고 유기 추출 용매의 양을 증가시켜 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율을 향상시켰다.

따라서, 본 발명의 바이오디젤 제조방법은 건조 미세조류를 이용한 바이오디젤의 제조방법에 비교하여 바이오디젤 생산 시간 및 비용을 현저히 줄일 수 있어 궁극적으로 상업화에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도6



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1525004353(20120165)

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양수산기술지역특성화사업

연구과제명 산 공정 개발 강원씨그랜트사업-해양투기 금지된 영동지역 하수처리장 슬러지를 활용한 바이오에너지 생

기 여 율 1/1

주관기관 강릉원주대학교산학협력단

연구기간 2015.03.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

미건조 미세조류 난노클로롭시스(Nannochloropsis) 속, 메탄올, 산 촉매, 클로르포름 및 제올라이트를 50 ℃ 내지 90 ℃에서 50분 내지 150분 동안 지질 추출 및 전이에스테르화 반응시키는 단계의 직접 제1단계를 포함하되,

상기 메탄올은 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 2 중량부 내지 7 중량부,

상기 산 촉매는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 0.005 중량부 내지 0.02 중량부,

상기 클로르포름은 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 6 중량부 내지 12 중량부를 포함하는 바이오디젤의 제조 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

미건조 미세조류는 수분이 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 1.5 내지 4 중량부 함유되어 있는 미세조류인 바이오디젤의 제조 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

미건조 미세조류는 미세조류 내 지질 함량이 10 내지 50 중량%인 바이오디젤의 제조 방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제 1 항에 있어서,

산 촉매는 황산, 인산, 염산 및 술폰산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 바이오디젤의 제조 방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

제 1 항에 있어서,

제올라이트는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 0.25 내지 2.5 중량부인 바이오디젤의 제조 방법.

청구항 11

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미건조 미세조류로부터 바이오디젤의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 바이오디젤은 신재생의 생분해성, 무독성 연료이며 일반적으로 식물성 오일, 동물성 지방, 또는 폐식용유의 전이에스테르 반응을 통해 제조된다[비특허문헌 1-2]. 바이오디젤 생산량의 증가에 따라 원료비용이 꾸준히 상승하였고, 식용 원료의 사용에 따른 윤리적인 논쟁이 야기됨에 따라, 연구자들은 바이오디젤 생산을 위한 지속가능하면서 비식용인 원료를 꾸준히 탐색해왔다. 미세조류는 지속 가능할 뿐만 아니라, 높은 생산성과 경제성 그리고 비식용이라는 장점으로 인해 최근 큰 관심을 받고 있다[비특허문헌 3-5]. 미세조류는 온실가스인 이산화탄소, 물, 태양에너지를 이용하여 광합성을 통해 유기물질을 합성할 수 있다. 또한, 미세조류 바이오매스의 생산성은 가장 빠르게 성장하는 식물 중 하나로 알려진 스위치그래스 (switchgrass) 보다 50배 이상 높은 것으로 알려져 있다[비특허문헌 5-7].

[0003] 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산은 일반적으로 바이오매스의 생산, 수확, 건조, 지질 추출 및 전이에스테르화 반응등 5단계로 구성되어 있다[비특허문헌 8-9]. 효율적인 바이오매스 생산을 위한 연구는 개방형 생물반응기인 개방형(race-way pond) 또는 폐쇄형 광생물 반응기를 이용하여 광범위하게 진행되어 왔다[비특허문헌 10,11]. 수확과 관련해서는 에너지와 비용을 줄이기 위한 방향으로 연구가 진행되어 왔으나[비특허문헌 12], 건조와 관련된 연구는 거의 진행되지 않고 있다. 건조를 위해서는 자연 상태에서 긴 시간 동안 건조를 하거나 인공적인 장치를 이용하여 많은 에너지를 사용하여 미세조류를 건조할 수 있다. 어떤 연구자들은 건조 과정을 생략하고 초임계 메탄올을 사용하여 젖은 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 생산하였다고 보고하였지만, 이 과정은 고압(1,200 psi, 혹은 81.67 기압)과 높은 온도(255 °C)가 필요하다[비특허문헌 13]. 마지막 단계인 지질 추출과 전이에스테르화 반응과 관련해서는 이 두 과정이 순차적으로 진행되는 2단계 공정(two-step process)과 이 두 단계가 동시에 진행되는 직접 1단계 공정(one-step direct process)이 있다. 2단계 공정에서는 유기용매 또는 기계적 압착을 통해서 미세조류의 지질을 추출하고 그 지질은 메탄올과의 전이에스테르화 반응을 통하여 바이오디젤의 성분인 메틸에스테르로 전환된다. 미세조류로부터의 지질 추출은 세포벽의 견고성에 의해 추출효율이 낮기 때문에 2단계 공정은 추출 효율에 크게 의존하게 되며, 이는 2단계 공정의 단점으로 지적되고 있다[비특허문헌 14]. 그리고 추출을 통해서 얻은 지질(조지질, crude lipid)의 바이오디젤 전환율을 높이기 위해서 탈검, 탈산, 탈색, 탈취를 포함한 후처리 정제공정이 필요로 한데 이러한 사후처리에는 별도의 처리 장치가 필요하고, 많은 에너지가 추가로 요구되며, 다량의 폐수를 발생시킬 수 있어 결과적으로 바이오디젤 생산 비용 증가를 유발한다[비특허문헌 15]. 이에 반해서, 지질추출과 전이에스테르화 반응이 동시에 수행되는 직접 1단계 공정은 공정이 단순하고, 높은 지질추출 효율과 바이오디젤 전환율을 얻을 수 있는 등 경제성이 높다는 장점이 있다.

[0004] 하지만 이러한 직접 1단계 공정을 수행하기 위한 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 생산 시 우선 미세조류를 건조시키는 공정이 수반되어야 한다. 수분이 다량 함유된 미세조류를 완전히 건조시키기 위해서는 자연건조, 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 방법 등이 있으나, 이들 모두 건조 시간, 에너지와 비용이 상당히 소요되며(전체 바이오디젤 생산 비용 중 약 22%가 수확 및 건조 비용임), 건조를 시키더라도 완전 건조가 이루어지지 않으면 지질 추출이나 전이에스테르화 반응에 부정적인 영향을 주는 단점을 가지기 때문에, 건조, 오일추출, 바이오디젤 전환 등의 비용을 크게 줄이기 위한, 건조 과정을 거치기 전 수분이 함유된 미건조 미세조류를 직접 바이오디젤 제조에 사용하는 연구가 필요하다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0005]

- (비특허문헌 0001) Jeon DJ, Yeom SH (2010) Two-step bioprocess employing whole cell and enzyme for economical biodiesel production. Korean J Chem Eng 27:1555-1559
- (비특허문헌 0002) Atadashi IM, Aroua MK, Abdul Aziz AR, Sulaiman NMN (2013) The effects of catalysts in biodiesel production: A review. J Ind Eng Chem 19:14-26
- (비특허문헌 0003) Gui MM, Lee KT, Bhatia S (2008) Feasibility of edible oil vs. non-edible oil vs. waste edible oil as biodiesel feedstock. Energy 33: 1646-1653
- (비특허문헌 0004) Chisti Y (2007) Biodiesel from microalgae. Biotechnol Adv 25: 294-306
- (비특허문헌 0005) Haag AL (2007) Algae bloom again. Nature 447: 520-521
- (비특허문헌 0006) Singh NK, Dhar DW (2011) Microalgae as second generation biofuel. A review. Agronomy Sust Develop 31: 605-629
- (비특허문헌 0007) Xiao M, Shin HJ, Dong Q (2013) Advances in cultivation and processing techniques for microalgal biodiesel: A review. Korean J Chem Eng 30: 2119-2126
- (비특허문헌 0008) Huang GH, Chen F, Wei D, Zhang XW, Chen G (2010) Biodiesel production by microalgal biotechnology. Appl Energy 87: 38-46
- (비특허문헌 0009) Lee JY, Yoo C, Jun SY, Ahn CY, Oh HM (2010) Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. Bioresource Technol 101: 75-77
- (비특허문헌 0010) Borowitzka MA (1999) Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. Prog Ind Microbiol 35: 313-321.
- (비특허문헌 0011) Jorquera O, Kiperstok A, Sales EA, Embirucu M, Ghirardi ML (2010) Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. Bioresource Technol 101: 1406-1413.
- (비특허문헌 0012) Chen CY, Yeh KL, Aisyah R, Lee DJ, Chang JS (2011) Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. Bioresource Technol 102: 71-81.
- (비특허문헌 0013) Patil PD, Gude VG, Mannarswamy A, Deng S, Cooke P, Munson-McGee S, Rhodes I, Lammers P, Nirmalakhandan N (2011) Optimization of direct conversion of wet algae to biodiesel under supercritical methanol conditions. Bioresource Technology 102: 118-122
- (비특허문헌 0014) Dong T, Wang J, Miao C, Zheng Y, Chen S (2013) Two-step biodiesel production from microalgae with high free fatty acid content. Bioresource Technol 136: 8-15
- (비특허문헌 0015) Yong KD, Gou K, Wang MJ, Zhang P, Lu Y (2009) Testing study on pretreatment of jatropha oil and ester-exchange for bio-diesel. Renew Energy Resource 27: 28-31

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006]

본 발명자들은 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산의 비용을 줄이기 위하여, 직접 1단계법을 이용하여 젖은 미세조류로부터 바이오디젤을 생산하는 방법을 개발함으로써 본 발명을 완성하게 되었다. 또한, 1단계 직접 방법에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 수분 함량의 효과를 고찰하였다. 그리고 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율을 높이기 위한 다양한 방법들을 평가하였으며, 젖은 미세조류를 이용하여 높은 지질 추출 효

올과 바이오디젤 전환율을 얻을 수 있는 기술을 제안하였다.

[0007] 따라서, 본 발명은 바이오디젤 생산비용을 절감하기 위해, 젖은 미세조류를 이용하여 직접 1단계법으로 바이오디젤을 제조하는 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 미건조 미세조류에, 메탄올, 산 촉매, 유기 추출 용매 및 고체 흡착제를 지질 추출 및 전이에스테르화 반응시키는 단계를 포함하는 바이오디젤의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명은 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산의 비용을 줄이기 위하여, 직접 1단계법을 이용하여 젖은 미세조류로부터 바이오디젤을 제조하는 방법에 관한 것으로, 황산과 클로로포름이 최적의 촉매 및 추출 유기 용매로 확인되었으며, 또한 미건조 미세조류의 수분 정도는 바이오디젤 생산에 크게 영향을 주었는데, 고체 흡착제 중 제올라이트를 사용하고, 추출 용매의 양을 일정량 증가시킴으로써 젖은 미세조류로부터 바이오디젤 생산을 획기적으로 개선할 수 있었다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 미세조류 지질 함량을 측정을 위해 제안된 방식을 나타낸 것이다[(a): 건조한 미세조류, (b): 비드비터 처리, (c): Bligh & Dyer 방법, (d): 유기층 분리, (e): 미세조류 지질].

도 2는 촉매와 유기 추출 용매 조합이 미건조(젖은) 미세조류를 이용한 1단계 직접 바이오디젤 생산에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 영향을 나타낸 것이다[■: 지질 추출 효율, ▨: 바이오디젤 전환율].

도 3은 미건조(젖은) 미세조류의 수분 함량이 1단계 직접 바이오디젤 생산에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 영향을 나타낸 것이다[■: 지질 추출 효율, ▨: 바이오디젤 전환율].

도 4는 유기 추출 용매 양이 미건조 미세조류를 이용한 1단계 직접 바이오디젤 생산에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 영향을 나타낸 것이다[■: 지질 추출 효율, ▨: 바이오디젤 전환율].

도 5는 흡착제 투입이 미건조 미세조류를 이용한 1단계 직접 바이오디젤 생산에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 영향을 나타낸 것이다[■: 지질 추출 효율, ▨: 바이오디젤 전환율].

도 6은 흡착제 투입과 반응물질 양의 변화가 미건조 미세조류를 이용한 1단계 직접 바이오디젤 생산에서 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 미치는 영향을 나타낸 것이다[■: 지질 추출 효율, ▨: 바이오디젤 전환율].

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은 흡착제가 투입된 직접 1단계법을 이용하여 미건조(젖은) 미세조류로부터 바이오디젤을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0012] 구체적으로, 미건조 미세조류에, 메탄올, 산 촉매, 유기 추출 용매 및 고체 흡착제를 지질 추출 및 전이에스테르화 반응시키는 단계를 포함하되,

[0013] 상기 유기 추출 용매는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 2 내지 12 중량부를 포함하는 바이오디젤의 제조방법에 관한 것이다.

[0014] 상기 바이오디젤의 제조방법을 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0015] 본 발명에서 용어 "미건조 미세조류"는 미세조류에 수분이 함유되어 있는 것을 의미하며, 일반적으로 미세조류는 바다나 민물에 서식하는 단세포 광합성 생물로서, 수분을 다량 함유하고 있다. 특히, 수분이 미건조 미세조류 100 중량부에 대하여 150 내지 400 중량부 정도 포함되어 있다.

[0016] 본 발명에서 용어 "직접 1단계법"은 미세조류로부터의 지질 추출과 추출된 지질과 메탄올의 전이에스테르화 반

응이 동시에 일어나는 반응을 의미한다.

- [0017] 또한, 상기 미세조류는 개방형(race way pond) 광생물 반응기 또는 폐쇄형(평판형) 광생물 반응기에서 배양될 수 있으며, 미세조류 내 지질 함량은 10 내지 50 중량%를 보인다. 상기 폐쇄형 광생물 반응기에는 평판형 광생물 반응기(flat-plate photobioreactor), 기포탑 광생물 반응기(bubble column photobioreactor), 공기부양 광생물 반응기(air-lift photobioreactor) 등이 있다.
- [0018] 상기 미세조류로는 구체적으로 Ankistrodesmus 속, Scenedesmus 속, Chlorella 속, Anabaena 속, Oscillatoria 속, Botryococcus 속, Neochloris 속, Tetraselmis 속, Porphyridium 속, Phaeodactylum 속, Nannochloropsis 속, Ellipsoidion 속, Isochrysis 속, Pavlova 속, Thalassiosira 속, Skeletonema 속, Chlorococcum 속, Dunaliella 속, Aphanozomenon 속, Haematococcus 속, Cryptocodinium 속, Shizochytrium 속, Hormidium 속, Chlamydomonas 속, Monallanthus 속, Nannochloris 속, Cyndrotheca 속, Nitzschia 속, Pleurochrysis 속, Prymnesium 속, Spirulina 속, Euglena 속 및 Schizochytrium 속으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 본 발명에서 사용된 유기 추출 용매는 젖은 미세조류로부터 지질을 추출하기 위한 용매로서, 구체적으로 클로로포름, 헥산, 아세톤 및 사이클로헥산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 또한, 상기 유기 추출 용매는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 2 내지 12 중량부를 사용하는 것이 바람직하다. 특히, 유기 추출 용매로 클로로포름을 사용하면 6 내지 12 중량부가 보다 바람직하고, 유기 추출 용매로 헥산을 사용하면 2 내지 6 중량부가 보다 바람직하다. 만일 유기 추출 용매를 2 중량부 미만으로 사용하게 되면 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율이 크게 낮아지는 문제가 있고, 12 중량부를 초과하면 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환효율 증가는 없으면서 생산비용만 높아지는 문제가 있다.
- [0021] 본 발명에서 미세조류로부터 추출된 지질과 전이에스테르 반응을 위해 사용되는 메탄올은 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 2 내지 7 중량부 사용하는 것이 바람직하다. 만일 2 중량부 미만으로 사용하게 되면 바이오디젤 전환율이 낮아지는 문제가 있고, 7 중량부를 초과하면 지질 추출효율이 오히려 감소하고, 전체적인 비용이 증가하는 문제가 있다.
- [0022] 본 발명에서 전이에스테르화 반응을 촉진하는 역할을 하는 산 촉매로는 황산, 염산, 술폰산, 인산 등을 사용할 수 있다. 상기 산 촉매는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 0.005 내지 0.02 중량부를 사용하는 것이 바람직하다. 만일, 산 촉매를 0.005 중량부 미만으로 사용하게 되면 반응시간이 오래 걸리고 바이오디젤 전환율이 낮은 문제가 있고, 부식성이 있는 산 촉매를 0.02 중량부 초과 사용하면 더 이상의 효율 증가는 없으면서, 약품 사용과 폐수처리 비용 등의 증가를 초래하고 각종 설비의 부식을 초래할 가능성이 있다.
- [0023] 본 발명에서 미세조류의 수분을 흡수하는 고체 흡착제는 구체적으로 제올라이트, 분자체, 활성탄, 벤토나이트 등일 수 있다. 고체 흡착제는 미건조 미세조류 1 중량부에 대하여 0.25 내지 2.5 중량부를 사용하는 것이 바람직하다. 만일, 고체 흡착제가 0.25 중량부 미만으로 사용하게 되면 고체 흡착제 투입의 효과가 상당히 낮고, 2.5 중량부를 초과하면 반응을 방해하여 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율이 오히려 낮아지는 문제가 있다.
- [0024] 상기 전이에스테르화 반응은 50 ℃ 내지 90 ℃에서 50분 내지 150분 동안 실시하는 것이 효율 면에서 바람직하다.
- [0025] 본 발명에 따른 미건조 미세조류로부터 바이오디젤을 제조하는 방법은 건조 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 제조하는 방법과 비교하여 고체 흡착제를 투입하고 유기 추출 용매 양을 증가시킴으로써 젖은 미세조류로부터 직접 1단계법을 통하여 상대적으로 높은 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율을 얻을 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 미세조류로부터 바이오디젤 생산 비용을 감소시키고, 따라서 미세조류 유래 바이오디젤의 상용화를 촉진할 수 있을 것으로 기대된다.
- [0026] 이하, 본 발명에 따르는 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0027] **[실시예]**

[0028]

1. 재료 및 실험방법

[0029]

1) 미세조류 및 화학 물질

[0030]

해수 미세조류인 *Nannochloropsis* sp. KMMCC 290을 이용하여 바이오디젤을 생산하였다. 미세조류는 5L의 작업 부피(working volume)를 갖는 평판형 광생물 반응기(flat-plate photobioreactor)에서 배양하였으며, 10% 이상의 Al₂O₃를 포함하는 응집제(Perfect Aqua Magic-pool 99, Korea) 1 mL를 투입하여 침전시켜 분리한 후 원심분리(Hanil Combi-514R, Korea)를 이용하여 수확하였다.

[0031]

메탄올(Showa, Japan)이 미세조류 지질의 아실 공여체(acyl donor)로 사용되어 전이에스테르화 반응이 일어나도록 하였다. 클로로포름(Wako, 일본)과 n-헥산(Showa, 일본)은 유기 추출 용매로 사용되었다. 황산(Showa, 일본) 및 수산화나트륨(NaOH)(덕산, 한국)은 각각 산 촉매와 알칼리 촉매로 사용되었다. Methyl heptadecanoate(Fluka, 일본)는 가스크로마토그래피(GC) 분석의 내부 표준 표준물질로 사용하였다. 활성탄(동양탄소, 한국), 분자체(molecular sieve)(Sigma-Aldrich UOP type 3, USA), 제올라이트(zeolite)(동양탄소, 한국)는 구매하였고, 견운모(sericite)는 관련 광산으로부터 무상 제공받았다. 본 실험에 사용된 다른 화학물질은 모두 분석등급 이상이었다.

[0032]

2) 분석 방법

[0033]

바이오디젤 전환율은 FID 검출기 및 HP-5 컬럼을 장착한 가스크로마토그래프(HP 5890 II, USA)를 사용하여 측정하였다. 주입기 및 검출기의 온도는 250 °C로 유지하였고, 오븐의 온도는 처음 2 분 동안 150 °C로 유지하였다가 5 °C/분의 속도로 250 °C로 올렸다. 헬륨을 운반가스로 사용하였다.

[0034]

바이오디젤 전환율은 하기 수학적 식 1로 계산하였다.

[0035]

[수학적 식 1]

[0036]

$$\text{Biodiesel conversion} = \frac{A_T - A_{C_{17}}}{A_{C_{17}}} \times \frac{V \times C}{M} \times 100$$

[0037]

상기 수학적 식 1에서, AT와 AC17은 각각 전체 메틸에스테르와 피크와 내부 표준물질(C17)의 피크 면적을 나타낸다. V, C, M은 각각 내부 표준물질의 부피(ml), 내부 표준물질의 농도(mg/ml), 샘플의 양(mg)을 나타낸다.

[0038]

3) 바이오디젤 제조

[0039]

바이오디젤은 젖은 미세조류 1g을 테프론 코팅된 마개를 갖춘 30 mL 유리병을 이용하여 제조하였다. 수분 함량(%)은 젖은 미세조류 1g 샘플 속에 포함된 수분 양과 실제 미세조류 양에 대한 비율로 정의하였다.

[0040]

직접 1단계 공정은 젖은 미세조류 1 g, 메탄올 2.6 g, 유기용매 4 ml(클로르포름 6 g, 헥산 2.6 g), 미세조류 질량의 1%(w/w)에 해당하는 산 혹은 알칼리 촉매 0.01 g를 넣고 70 °C에서 90분간 반응을 시켰으며, 이를 표준 반응조건[Johnson MB, Wen Z (2009) Production of Biodiesel Fuel from the Microalga *Schizochytrium limacinum* by Direct Transesterification of Algal Biomass. *Energy Fuels* 23:5179-5183]으로 하였으며, 실험에 따라 그 조건을 다르게 하였다. 병은 반응물질이 반응 중 새어나가지 않도록 단단히 마개를 단았다. 반응이 끝난 후 병은 실온에서 냉각시켰으며, 증류수 20 mL를 첨가한 후 강하게 흔들어 주었다. 10분 동안 원심분리한 후 유기층만을 분리하고 24시간 동안 실온에서 건조하였다.

[0041]

지질 추출 효율은 건조된 유기층의 질량을 미세조류가 원래 가지고 있던 지질의 양으로 나눔으로써 결정하였고, 이 유기층을 GC로 분석함으로써 바이오디젤 전환율을 결정하였다.

[0042]

2. 결과

[0043]

1) 최적의 촉매 및 유기 추출 용매

[0044]

폐쇄형 평판형 광생물반응기에서 배양한 *Nannochloropsis* sp. KMMCC 290의 지질 함량은 전통적인 지질 함량 측정 방법인 Bligh & Dyer 방법[Bligh EG, Dyer WJ (1959) A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917]에 비드비터에 의한 전처리를 추가하여 결정하였다.

[0045]

이 방법은 본 연구팀이 바로 앞선 연구에서 제안한 것이다. 즉, Bligh & Dyer 방법만으로는 완전한 지질 추출이

이루어지지 않았기 때문에 마이크로웨이브, 초음파, 오토클레이브, 비드비터 처리 등을 전처리한 후 Bligh & Dyer 법을 실시하고 그 결과를 비교한 후 비드비터 처리 후에 Bligh & Dyer 법으로 하는 것이 가장 정확한 방법으로 확인되었다. 이 방법의 절차는 첨부도면 도 1에 나타내었다.

[0046] 건조 미세조류(지질 함량 16.1%)를 이용한 바이오디젤 제조 결과를 보면, 최적 촉매/추출 유기용매 조합으로 판명된 황산과 클로로포름을 사용했을 때 가장 높은 지질 추출 효율(93.2%)과 바이오디젤 전환율(97.1%)을 나타냈다[도 3]. 실험에 사용할 많은 양의 미세조류를 확보하기 위해 race-way에서 배양하고 수확한 후 5일간 햇빛에서 건조한 미세조류를 사용하였다. 또한, 이의 반응조건은 상기1의 4)와 동일하게 수행하였다.

[0047] 그 다음으로, 수산화나트륨과 클로로포름 조합 그리고 수산화나트륨과 헥산 조합이 좋은 결과를 보였다. 이러한 연구 결과에 기초하여 본 실험에서는 미건조 미세조류(미세조류 100% 대비 수분 함량 348.4%)를 이용하여, 촉매 2종류(황산과 수산화나트륨), 유기 추출 용매 2종류(클로로포름, 헥산) 등 모두 4 종류의 조합을 대상으로 그 성능을 평가하였다. 도 2에서 보는 바와 같이, 황산과 클로로포름 조합이 가장 높은 지질 추출 효율(73.2%)과 바이오디젤 전환율(50.5%)을 나타내었다. 그 다음으로 수산화나트륨과 클로로포름이 약간 낮은 지질 추출 효율(72.4 %)과 바이오디젤 전환율(48.8 %)을 보여주었다. 동일한 반응조건임에도 불구하고, 미건조 미세조류는 건조 미세조류와 비교하여 훨씬 낮은 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율을 나타내었다. 즉, 미세조류 바이오디젤 생산의 두 가지 평가 기준(지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율) 모두 물의 존재에 의해 크게 감소하는 것으로 나타났다.

[0048] 2) 수분 함량의 영향

[0049] 본 실험에서는 미세조류에 포함된 수분 함량에 따른 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율의 영향을 조사하였다.

[0050] 응집 및 원심분리에 의해 수확된 미세조류 *Nannochloropsis* sp. KMMCC 290의 수분 함량은 미세조류 100% 대비 348.4 %였다.

[0051] 이 미세조류를 70 °C오븐에서 12시간 건조시켰을 때 수분 함량은 257.1 %로 감소하였고 실온에서 24시간 동안 건조시켰을 때 185.7%로 감소하였다. 완전하게 건조된 미세조류는 105 °C에서 24시간 건조하여 얻었다. 이러한 다양한 수분 함량을 갖는 미세조류를 이용하여 바이오디젤을 생산하였다.

[0052] 도 3에 보인 바와 같이, 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두 수분 함량에 크게 의존하는 것으로 나타났다. 수분 함량이 348.4%에서 257.1%로 감소하였을 때 지질 추출 효율은 73.2에서 87.8%로, 바이오디젤 전환율은 50.5%에서 63.2%로 상승하였다. 수분 함량이 185.7%로 더욱 감소하였을 때 지질 추출 효율은 84.7%로, 바이오디젤 전환율은 69.9%로 증가하였다.

[0053] 높은 수분 함량은 1 g의 미세조류 샘플에 적은 양의 실제 미세조류가 함유되어 있음을 의미한다. 즉, 300% 수분 함량의 미세조류 샘플 1g은 단지 0.25g의 미세조류만 함유하고 있으며, 100% 수분 함량의 미세조류는 50% 미세조류(0.5g)와 50% 수분(0.5g)을 포함하고 있다. 높은 수분 함량의 미세조류의 경우 실제 미세조류 g당 더 많은 양의 클로로포름, 황산, 메탄올에 노출되지만 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 낮게 나타났다. 결과적으로, 수분의 존재는 미세조류 바이오디젤 생산을 비효율적이며 비경제적으로 만든다고 할 수 있다.

[0054] 3) 유기 추출 용매 양의 영향

[0055] 본 실험에서 클로로포름은 미건조(젖은) 미세조류(미세조류 100% 대비 수분 함량 348%, 지질 함량 20.8%)로부터 지질을 추출하기 위한 용매로서 사용되었다. 클로로포름이 효율적인 유기 추출 용매이긴 하지만 젖은 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산에서는 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두 낮게 나타났다. 클로로포름은 물과 거의 섞이지 않기 때문에 미세조류 내부에 포함되고 있고 주변을 둘러싸고 있는 물이 클로로포름과 미세조류의 접촉을 방해했을 것으로 생각된다. 우리는 클로로포름과 물의 상대적 양의 비율이 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에 영향을 줄 것으로 생각하고 미건조 미세조류를 대상으로 클로로포름의 양을 달리해가면서 그 영향을 조사하였다. 도 4에서 보는 바와 같이, 클로로포름의 양을 50% 감소시켰을 때 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 각각 22.9%와 17.6%로 크게 감소하였다. 클로로포름의 양을 50% 증가시켰을 때는 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 각각 79.5%와 54.5%로 증가하였다. 클로로포름 양을 100 %로 증가시켰을 때 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 81.2%와 56.1%로 조금 더 증가하였다. 이러한 결과는 추출 용매인 클로로포름의 양을 증가함으로써 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두를 향상시킬 수 있음을 보여준다. 그러나, 어떤 임계값 이상의 클로로포름 양의 증가는 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율의 미미한 증가를 얻을 수 있음을 의미한다.

[0056] 4) 고체 흡착제의 효과

[0057] 앞의 절에서 미세조류의 수분 함량이 낮아지면 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두 높아짐을 알 수 있었다. 여기서 바이오디젤 생산을 위한 직접 1단계 공정에서, 흡착제를 투입하면 바이오디젤 생산이 향상되지 않을까 하는 아이디어를 냈고 이를 실험해 보았다. 가장 널리 사용되는 흡착제인 활성탄(activated carbon), 분자체(molecular sieve), 제올라이트(zeolite)와 강릉이 위치한 동해안 지역에서 많이 생산되는 견운모(sericite)를 대상으로 평가하였다. 미건조 미세조류(미세조류 100% 대비 수분 함량 348.4%, 지질 함량 20.8%)를 대상으로 하였으며, 앞서 설명한 표준 반응조건(상기 1의 4) 참조)에 1g의 흡착제를 첨가하여 실험하였으며, 그 결과를 도 5에 보였다. 모든 경우에 있어서 지질 추출 효율은 증가하였으며, 특히 제올라이트의 경우 98.3%까지 증가하였다. 그러나 바이오디젤 전환율은 모두 감소하였는데 이는 흡착제의 존재가 오히려 전이에스테르 반응을 방해했기 때문으로 생각된다. 또한, 클로로포름이나 황산, 메탄올 등이 흡착제에 흡수될 수도 있어 그에 따라 바이오디젤 전환율이 낮게 나타났을 수도 있었을 것으로 생각되었다. 따라서, 흡착제 존재 하에 1단계 직접 공정에 관여하는 화학물질의 양을 늘리면 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율을 모두 향상시킬 수 있을 것으로 판단되어 이에 대한 실험을 아래에서 실시하였다.

[0058] 5) 흡착제 존재 하에 화합물의 양 변화에 따른 영향

[0059] 제올라이트가 가장 높은 지질 추출 효율을 보여주었기 때문에 이를 투입한 상태에서 클로로포름, 황산, 메탄올의 양을 변화시키면서 그 결과를 알아보았다.

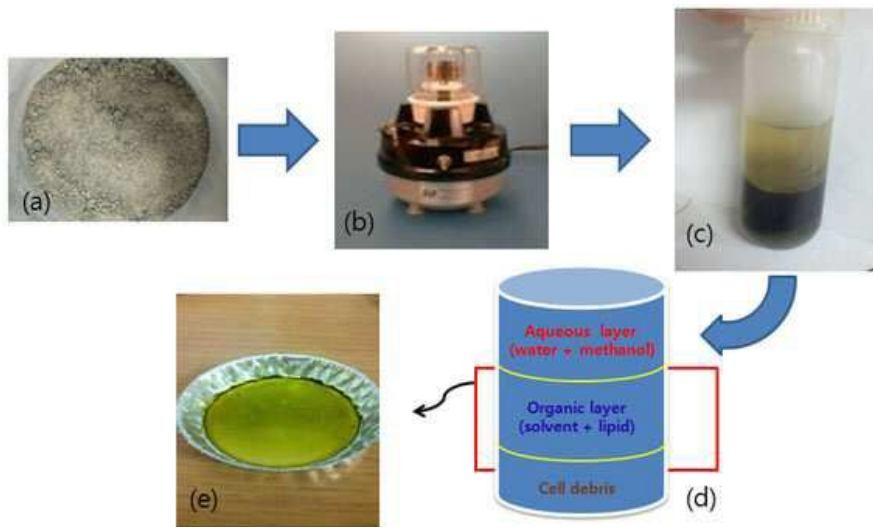
[0060] 클로로포름의 양을 표준 상태(6 g)에 비해 50% 증가(9 g)시켰을 때 지질 추출 효율 및 바이오디젤 전환율 각각 98.3% 및 75.3%로 증가하였다. 메탄올의 양을 50% 증가(4.05 g)시켰을 때 지질 추출 효율 및 바이오디젤 전환율은 각각 93.6%와 73.6%로 증가하였다. 황산의 경우는 그 양을 50% 증가(0.015 g)시켰을 때 지질 추출 효율은 80.6%로 증가하였지만 바이오디젤 전환율은 거의 변화가 없었다(49.6%). 클로로포름과 메탄올의 증가는 지질 추출 효율과 전이에스테르 반응을 촉진할 수 있었을 것이다.

[0061] **3. 결론**

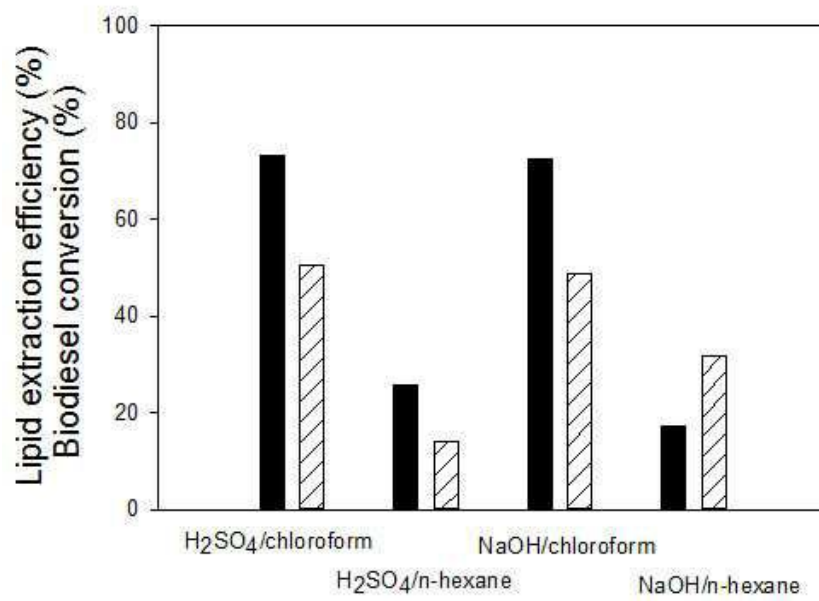
[0062] 본 실험에서는 평판형 광생물반응기에서 배양한 해양 미세조류인 *Nannochloropsis* sp. KMMCC 290을 이용하여 직접 1단계 법으로 바이오디젤을 생산하였다. 미세조류의 지질 함량은 20.8%였는데, 이는 동일한 미세조류를 개방형 race-way pond에서 배양했을 때인 16.1%보다 높은 수치였다. 미건조 미세조류(미세조류 100% 대비 수분 함량 348.4%)를 대상으로, 다양한 촉매와 유기 추출 용매를 테스트한 결과 황산과 클로로포름 조합이 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율에서 각각 73.2%와 50.5%로 가장 좋은 결과를 보여주었다. 수분 함량은 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두에 큰 영향을 주었는데, 예를 들어 수분 함량이 185.7%로 감소하였을 때 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 각각 84.7%와 69.9%로 증가하였다. 클로로포름의 양을 증가시켰을 때 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 모두 증가되었으나 어느 수준 이상의 클로로포름에서는 그 영향이 제한적이었다. 흡착제를 투입하였을 때 바이오디젤 전환율은 감소하였으나 지질 추출 효율은 증가하였고, 특히 제올라이트의 경우 98.7%까지 증가하였다. 제올라이트 투입 조건에서 클로로포름 및/또는 메탄올 양의 증가는 현저한 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율 증가를 보였는데, 특히 클로로포름의 양을 50% 증가시켰을 때 지질 추출 효율과 바이오디젤 전환율은 각각 98.3%와 75.3%에 달하였다.

도면

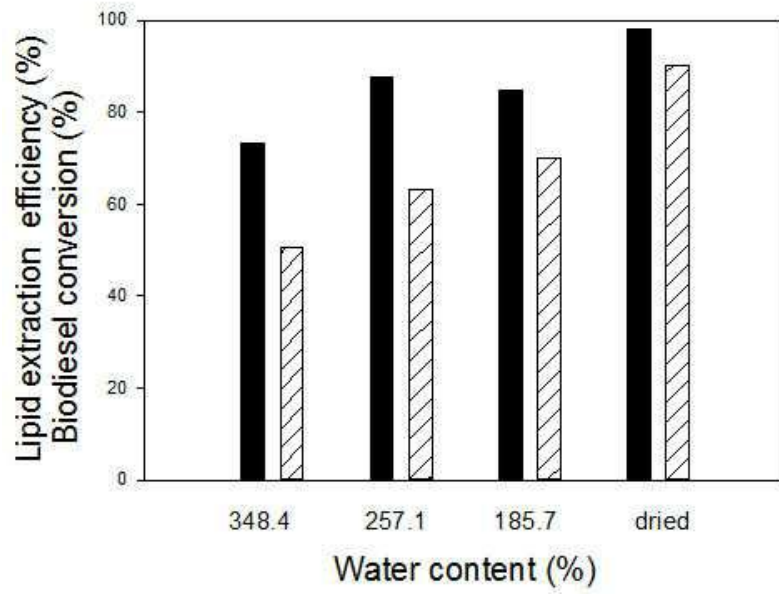
도면1



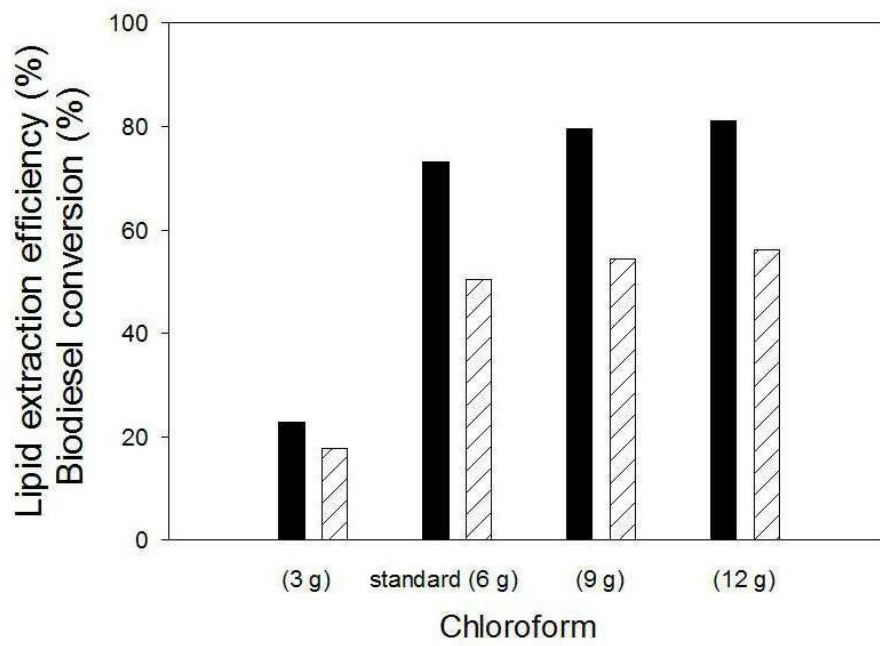
도면2



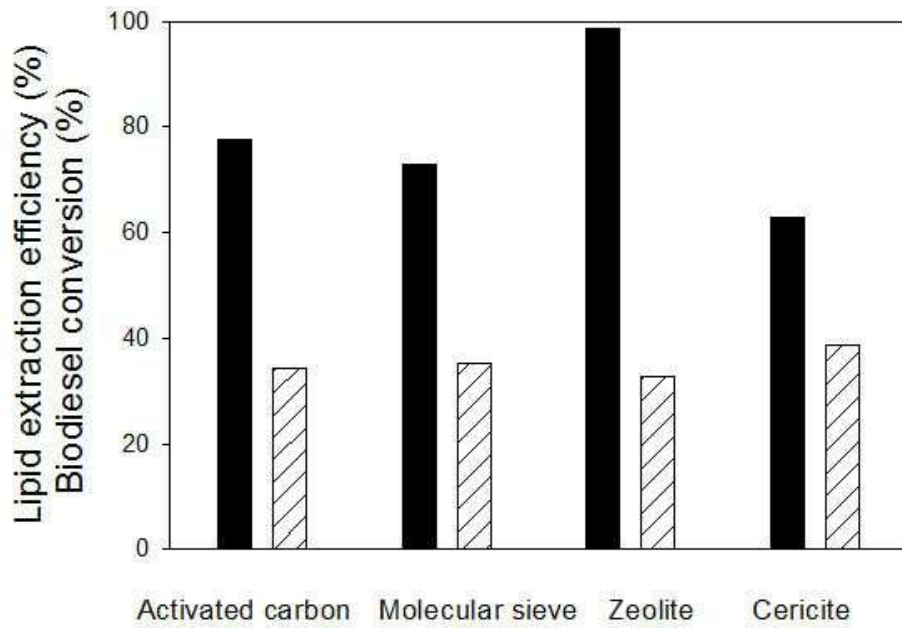
도면3



도면4



도면5



도면6

