

Botryococcus braunii 배양에서 탄화수소의 two-stage 동시추출공정

안진영^{1,2}, 최정규¹, 심상준^{1*}, 김병우²

한국과학기술연구원 청정기술연구센터¹, 성균관대학교 화학공학과²

전화 (02) 958-5266, Fax (02) 958-5269 *

Abstract

The carbon dioxide, nitrogen, and phosphate removals from wastewater using microalgae have extensively been studied. Especially, the green colonial algae *Botryococcus braunii* is characterized by unusual high hydrocarbon contents, ranging from 15 to 75% of dry weight, as long-chain unsaturated hydrocarbons. These hydrocarbons suggest that the possibility of renewable biofuels to be converted into useful fuels such as gasoline by simple catalytic cracking. The poor recovery (18 - 32%) of hydrocarbon from *B. braunii* culture in two-phase bubble column seems to be caused by insufficient mixing between two phases, which was operated using only aeration on the narrow interface between hydrophobic solvent and cell suspension. In addition, hydrocarbon was entrapped tightly in cell-matrix (formed by exopolysaccharide) of algal colony, which make difficult to extract using two-phase system. In order to overcome low recovery efficiency, two-stage extraction culture system including culture vessel and two-phase separator is now under development, resulted improving contact between solvent phase and cell suspension. Hydrocarbon recovery using this process was more than two times as that using two-phase extraction culture.

서론

건조질량의 15~75 %의 탄화수소를 생산한다고 알려진 green colonial algae인 *B. braunii*는 화석연료를 대체할 재생 생물연료(renewable biofuels)로 제시되고 있다. 생산된 탄화수소의 대부분은 균주 외벽의 다당류에 의해 형성된 matrix인 external pool에 존재한다.^{1, 2)}

본 연구에서는 균주의 배양과 동시에 생산물을 회수할 수 있는 동시추출공정을 *B. braunii* 배양에 적용하고자 한다. 일반적으로 미생물을 이용한 발효에 있어 생산물이 미생물의 성장과 활성을 저해하는 경우 독성이 작고 생산물에 대해 용해도가 높은 용매를 이용하여 미생물 표면 혹은 배양액 중에 포함된 생산물을 분배계수 차이에 의해 용매층으로 회수하는 동시추출법을 이용한다.^{3, 4)} 그러나 *B. braunii*의 경우 생산된 탄화수소가 균주 외벽의 matrix에 강하게 부착되어 있기 때문에, 가장

일반적인 동시추출법인 two-phase 추출공정 적용시 bubble column내에서 단지 폭기에 의한 교반만으로는 충분한 탄화수소의 회수율을 얻을 수가 없었다.

이러한 문제를 극복하기 위해, 본 연구에서는 미세조류의 배양 column과 탄화수소의 추출을 위한 two-phase column 사이에 배양액을 재순환시키는 two-stage 동시추출공정을 개발하여 탄화수소의 회수율을 높이고자 하였다.

재료 및 방법

사용된 균주는 green colonial algae인 *B. braunii* UTEX 572이며, 배지는 modified CHU13을 이용하였다. 본 연구에 사용된 동시추출을 위한 500ml 용량의 bubble column에서의 배양조건은 외부광도는 $100 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 배양온도는 25°C 로 고정하였고, 1% CO_2 혼합공기를 100 ml/min으로 공급하였다.

균체의 농도는 680nm에서 흡광도를 측정하여 건조중량을 추정하였다 (Dry biomass (g/L) = $0.515 \times \text{OD}_{680}$). 탄화수소는 10 ml 배양액을 80°C , 24h 건조시킨 후 acetone과 초음파균질기(VC 100, Materials & Sonics Inc., USA)를 이용하여 추출한 다음, silica gel로 충전된 chromatograph column($2 \times 7\text{cm}$)에서 탄화수소만을 정제한 다음, GC(FID)로 분석하였다. 정량을 위한 internal standard로 squalene을 사용하였다.

결과 및 고찰

Two-stage 동시추출공정에서 최적용매로 선정된 dihexyl ether의 경우 알칸계 비극성 유기용매(10~20%) 보다 비교적 높은 회수율(20~30%)을 가지지만, 상대적으로 고가(\$230/500ml)인 단점이 있고, 높은 비점(228°C)으로 인해 분리공정이 복잡하고 많은 분리비용을 초래한다. 또한 균체의 활성도를 chlorophyll 농도에 의해 비교하면, octane의 경우 균체의 활성도는 63%로 dihexyl ether의 43% 보다 비교적 저해성이 적은 것으로 나타났다 (Fig. 1). 따라서 회수율이 개선된 two-stage 동시추출공정의 경우 분리가 용이하고 비교적 저해성이 적어 장기운전시 유리한 octane(bp= 120°C)을 최적용매로 선정하였다.

Fig. 2는 동시추출용 용매로 octane을 이용하였을 경우에 two-phase 동시추출공정과 배양액의 재순환 속도가 10~12ml/min인 two-stage 동시추출공정에서 유기용매층의 탄화수소의 농도변화를 보여준다. two phase 동시추출공정의 경우 20.2%의 탄화수소 회수율을 보인 반면, 재순환 동시추출공정에서는 56.2%로 2배 이상의 회수율이 증가되었다. Table 1에 두가지 유형의 동시추출공정과 다양한 유기용매에 따른 비성장속도와 탄화수소 회수율에 대해 정리하였다.

본연구에서 개발된 재순환 동시추출 공정을 이용하여 기존의 two-phase 동시추출 공정보다 2배 이상의 탄화수소 회수율을 얻을 수가 있었다. 또한 배양액의 재순

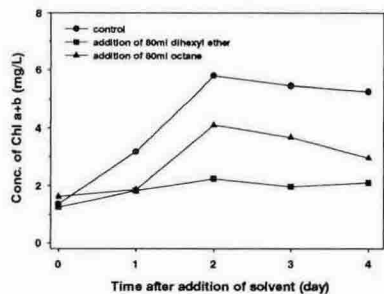
환 속도의 변화를 통한 균체성장과 탄화수소 회수율에 미치는 영향 및 단속적 재순환 추출공정에 대한 연구를 계속 수행하고 있다.

요 약

본 연구에서는 균주의 배양과 동시에 생산물을 회수할 수 있는 동시추출공정을 건조질량의 15~75 %의 탄화수소를 생산한다고 알려진 *B. braunii* 배양에 적용하고자 한다. 일반적인 two-phase 동시추출공정의 적용시 *B. braunii*의 경우 생산된 탄화수소가 균주 외벽의 matrix에 강하게 부착되어 있기 때문에, two phase 추출공정 적용시 bubble column내에서 단지 폭기에 의한 교반만으로는 충분한 탄화수소의 회수율을 얻을 수가 없었다. 본 연구에서는 배양액과 유기용매층의 접촉기회를 증대시킨 two-stage 동시추출 공정을 개발하여 기존의 two-phase 동시추출 공정보다 2배 이상 높은 56.2%의 탄화수소 회수율을 얻을 수가 있었다.

참고문헌

1. P. Metzger, C. Berkaloff, E. Casadevall and A. Coute, "Alkadiene- and botryococcene- producing races of wild strains of *Botryococcus braunii*" (1985), *Phytochemistry*, vol. **24**, pp 2305-2312.
2. E. Casadevall, D. Dif, and C. Largeau, "Studies on batch and continuous culture of *Botryococcus braunii*" (1985), *Biotech. Bioeng.*, vol. **27**, pp 286-295.
3. J. Frenz, C. Largeau, and E. Casadevall, "Hydrocarbon recovery and biocompatibility of solvents for extraction from cultures of *Botryococcus braunii*" (1989), *Biotech. Bioeng.*, vol. **34**, pp 755-762.
4. J. Frenz, C. Largeau, and E. Casadevall, "Hydrocarbon recovery by extraction with a biocompatible solvent from free and immobilized cultures of *Botryococcus braunii*" (1989), *Enzyme Microb. Technol.*, vol. **11**, pp 717-724.



Solvent	Activity (percentage of control)
Dihexyl ether	43.0
Octane	63.3
Heptane	25.6

Fig. 1. Effect of various solvent for *in situ* extraction on cell's activity determined by chlorophyll contents.

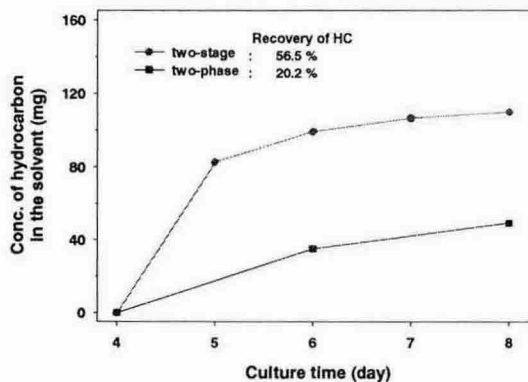


Fig. 2. Time courses of hydrocarbon contents in the solvent(octane) under different extraction culture systems.

Table 1. Specific growth rate and recovery of hydrocarbon in different extraction culture systems

Type	Solvent	Specific growth rate (h^{-1})	Recovery of HC (%)
Two -phase extraction culture	Dihexyl ether	0.019	25.2
	Hexane	0.027	18.3
	Octane	0.029	20.2
Recycle extraction culture	Octane	0.012	56.5