

모형 배양조 형태에 따른 단세포 조류의 비증식속도

곽중기 · 김현주 · 이지현 · 신가희 · 조만기* · 한봉호**

부경대학교 해양산업공학과, *동서대학교 산업기술연구센터, **부경대학교 식품공학과

Specific Growth Rates of Microalgae in Different Types of Model Photobioreactors

Jung-Ki KWAK, Hyun-Ju KIM, Ji-Hyun LEE, Ga-Hee SHIN, Man-Gi CHO* and Bong-Ho HAN**

Dept. of Marine Industrial Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea,

* Engineering Research Center, Dongseo University, Pusan 617-716, Korea,

**Dept. of Food Sci. & Technol., Pukyong National University, Pusan 608-737 Korea

In the aquaculture industry, a photobioreactor (Pbr) with high productivity is a prerequisite for mass production of *Chlorella* sp., a feeding fry for *Rotifer* (*Brachinous plicatilis*). To enhance the productivity of *Chlorella* sp., model Pbrs such as Cylinder type, Spherical surface type, Half-spherical surface type, Plate type, Raceway pond type and Water-wheel type Pbr with different values of surface area exposed to light/culture volume (S/V) were manufactured, and the maximum specific growth rate (μ_{max}) and productivity of *Chlorella vulgaris* 211-11b at 25°C, pH 7.0 and 12,000 lux were compared each other. The μ_{max} and productivity were not proportional to S/V. Among the 6 model Pbrs, Half-spherical surface type Pbr showed the highest μ_{max} and productivity as 2.206 (day^{-1}) and 0.247 ($g\ell^{-1}day^{-1}$).

Key words: type of photobioreactor, *Chlorella vulgaris* 211-11b, specific growth rate

서 론

단세포 조류 배양기술은 사료 또는 식품용을 목적으로 1970년대 후반부터 1980년대 초반에 걸쳐 급속하게 발전하였으나, 배양공정기술은 극히 초보적인 단계를 벗어나지 못하였다 (Gudin and Chaumont, 1991; Patterson *et al.*, 1993; Borowiczka, 1995). 초기에는 대부분 연못 형태의 배양조를 이용하였으며, 이런 형태의 배양조에서는 배양액을 채우고 자연광선으로 빛을 공급하였을 때, 단세포 조류의 농도가 높아지면 전체 배양액에 빛이 균일하게 투과하지 못하며, 특히 배양조 밑바닥의 단세포 조류는 빛을 충분히 공급받을 수 없게 된다 (Javanmardian and Palsson, 1991). 따라서 배양액의 깊이는 15~30 cm 이상으로 할 수가 없었으며, 생산성을 높이기 위해서는 빛을 받는 표면적을 증대시켜야 하기 때문에 대단히 넓은 면적이 필요하게 된다 (Pulz *et al.*, 1995).

연못 형태의 배양조에서는 교반이 불가능할 뿐만 아니라, 단세포 조류의 광합성에 필요한 탄소원으로서의 CO₂의 공급도 어렵게 된다. 대기 중의 CO₂의 양은 0.03% 정도 (Bae and Lee, 1994)로서 배양액 중의 CO₂와의 농도구배가 극히 작기 때문에 단순한 공기의 공급으로는 CO₂가 배지속으로 원활하게 공급될 수가 없다. 그리고 대기 중의 CO₂는 접촉면에서 배지속으로 침투되는데, 빛의 공급에서와 같이 대기와의 접촉면 부근의 조류에만

CO₂가 충분히 공급되는 결점이 있다. 또한 단세포 조류에 의하여 생성되는 O₂의 농도도 효과적인 제어없이 배지에 용존하게 되어 오히려 단세포 조류의 성장에 악영향을 줄 수 있는 정도에 달하게 된다. 그 이외의 문제점으로는 전체 배양조 온도의 자동조절이 매우 어렵다는 점을 들 수 있다. 이러한 저해 요인들 때문에 연못 형태의 배양조는 일반적으로 생산성이 매우 낮다. 그리고 배지 중에 빛과 영양성분을 적당히 공급해 주면, 생산성은 낮더라도 배양은 일단 가능하다는 이점도 있기는 하지만, 매우 넓은 면적의 배양조가 필요하게 되므로, 부동산 가격이 현저하게 비싼 우리 나라에서는 연못 형태의 배양조는 극히 비경제적이라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 생산성이 높은 배양조를 개발하고자 전보 (Lim *et al.*, 1998)에 이어서 단세포 조류의 특성 및 배양조 설계에 대한 각종 연구결과들을 근거로 몇가지 모형 배양조를 제작하고, 단세포 조류의 최대 비증식속도 (μ_{max})를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 모형 배양조

배양액의 체적에 대한 직접 빛을 받는 면적의 비 (surface/volume, S/V)가 서로 다른, 밀폐형 모형 배양조들을

제작하고 *Chlorella*의 μ_{max} 를 측정하였다. 각 모형 배양조에서의 μ_{max} 는 가로, 세로가 각각 27 cm 및 29 cm, 높이가 50 cm인 연못 형태의 모형 배양조에서 배양액의 깊이를 30 cm로 하여 배양한 *Chlorella*의 μ_{max} 와도 비교하였다. 이때 연못형 배양조의 S/V는 $3.33 (m^{-1})$ 였다. 그리고 Water-wheel type photobioreactor를 제외하고는 각 배양조에서 배양액의 체적유량을 $4l/min$ 로 조절하였다.

가. **Cylinder type photobioreactor (CT-Pbr)**: 이 배양조는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 원통형 몸체, 가스 교환기, CO₂ 공급속도 조절기, 순환펌프로 구성하였다. 배양액은 투명 아크릴로 제작된 3개의 원통형 몸체를 연결하여 순환되게 하였으며, S/V는 $40.48 (m^{-1})$ 였다.

나. **Spherical surface type photobioreactor (SS-Pbr)**: 이 배양조는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이, 두개의 둥근 플라스크를 거꾸로 세우고 배양액을 위쪽으로 분무

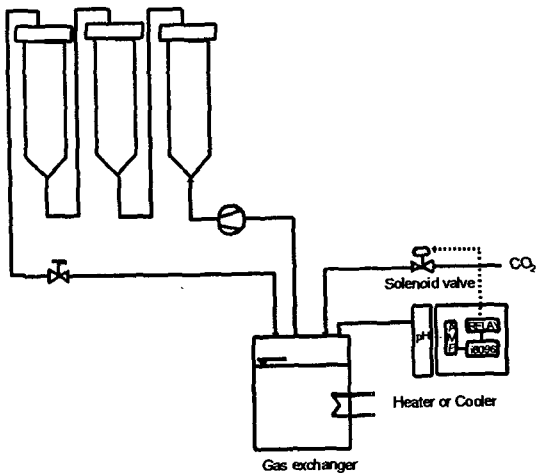


Fig. 1. Schematic representation of a cylinder type photobioreactor (CT-Pbr).

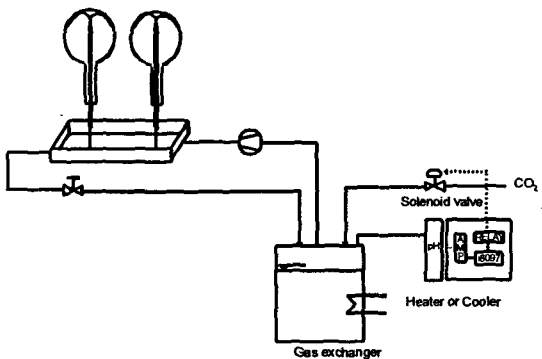


Fig. 2. Schematic representation of a spherical surface type photobioreactor (SS-Pbr).

하여 배양액이 균등하게 벽면을 타고 내리도록 함으로써 빛을 받는 면적을 크게 하였으며, 이 때의 S/V는 $80.38 (m^{-1})$ 였다. 전체 시스템은 CT-Pbr과 같은 원리로 제작한 가스 교환기와 CO₂ 조절기 및 순환펌프로 구성하였다.

다. **Half-spherical surface type photobioreactor (HS-Pbr)**: 이 배양조는 SS-Pbr의 구형 플라스크를 반구형으로 변형시킨 것으로서, S/V는 $46.2 (m^{-1})$ 였으며, 모식도는 Fig. 3에 나타내었다. 전체 배양 시스템은 반구형의 아크릴 부분, CO₂ 공급속도 조절기, 가스 교환기 및 순환펌프로 구성하였다. 배양액은 순환펌프에 의하여 배양조의 가장 윗부분으로 공급되어 단계적으로 반구형 아크릴의 표면을 흘러 내리도록 하였다.

라. **Plate type photobioreactor (PT-Pbr)**: 이 배양조는 단세포 조류의 농도가 높아짐에 따라 빛의 조사 효율이 크게 떨어져 배양액을 2 cm 정도밖에 투과할 수 없다는 점 (Cho et al., 1997)을 감안하여 제작한 것으로서, 온도 조절기, 가스 교환기, CO₂ 공급속도 조절기, 순환펌프 및 배양액이 흐르는 평판으로 구성하였다. 모식도는 Fig. 4에 나타내었으며, 평판의 규격은 $30 cm \times 30 cm \times 2 cm$ 였으며, S/V는 $113.3 (m^{-1})$ 에 달하였다. 평판의 내부에는 2 cm 간격으로 격벽을 설치하여 단면적 $4 cm^2$ 의 육각관을 형성시켰으며, 관의 전체 길이는 2 m에 달하였다. 또한 평판과 격벽의 모서리에는 방해판을 설치하여 모서리 부분에 단세포 조류가 쌓이는 현상을 극소화시켰다.

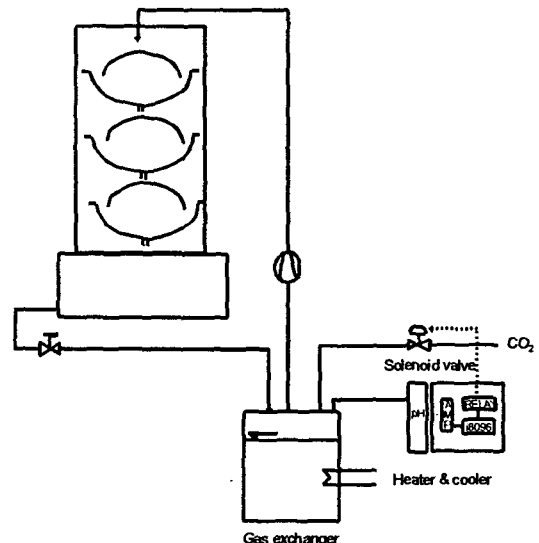


Fig. 3. Schematic representation of a half-spherical surface type photobioreactor (HS-Pbr).

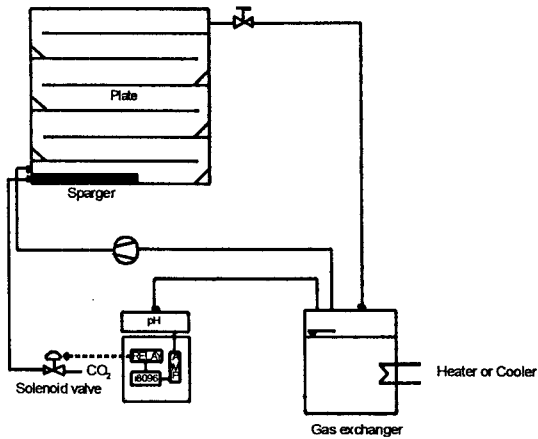


Fig. 4. Schematic representation of a plate type photobioreactor (PT-Pbr).

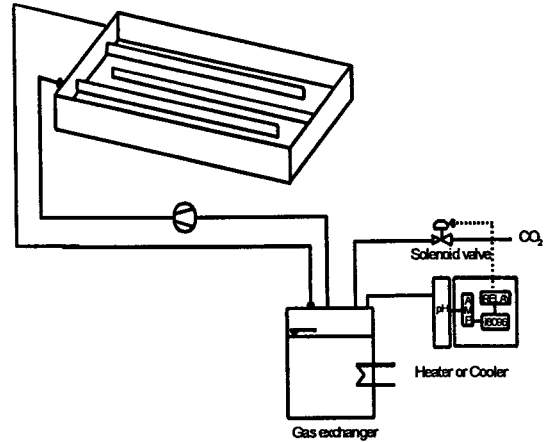


Fig. 5. Schematic representation of a raceway pond type photobioreactor (RP-Pbr).

마. Raceway pond type photobioreactor (RP-Pbr) : 이 배양조는 연못 형태 배양조에서 빛의 공급 효율을 향상시키고자 개선한 형태이며, 모식도는 Fig. 5에 나타내었다. 전체적으로는 온도 조절기, 가스 교환기, CO₂ 공급속도 조절기 및 순환펌프와 도랑 형태의 평판으로 구성하였으며, S/V는 83.3 (m⁻¹)였다.

바. Water-wheel type photobioreactor (WT-Pbr) : 이 배양조는 연못 형태 배양조에서 배양액의 물질순환을 향상시키기 위하여 개량한 형태이며, 모식도는 Fig. 6에 나타내었다. 단세포 조류가 빛을 받는 표면적을 극대화시키고 배양액이 폭포와 같이 떨어지게 함으로써 배양 중에 생성된 O₂가 용이하게 발산되도록 한 배양조로서, 가스 교환기, CO₂ 공급속도 조절기, 물레방아 및 물레방아를 회전시키는 모터로 구성하였다. 물레방아 바퀴의 여덟 곳에 3개씩 총 24개의 소형 배양컵을 달았고, 바퀴는 분당 6회전시켰다. 이 배양조의 S/V는 21.23 (m⁻¹)였다.

2. 단세포 조류의 배양

가. 배 양 : 단세포 조류로는 독일 Göttingen 대학에서 분양받은 담수산 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 사용하였으며, 온도, pH 및 조도가 25°C, 7.0 및 12,000 lux로 일정하게 유지되는 배양실 내의 각 모형 배양조에서 배양하였다. 배지로는 f/2배지를 사용하였으며, 121°C, 1.5 lb에서 15분간 멸균하여 사용하였다 (Guillard and Rytter, 1962; Cho et al., 1997). 아크릴로 제작한 각 배양조는 3일간 물에 담그어 두어 아크릴로 부터의 유해물질을 제거한 후, 비누로 세척하고 다시 증류수로 세척한 다음 건조시켜 사용하였으며, 외부로부터의 오염원을

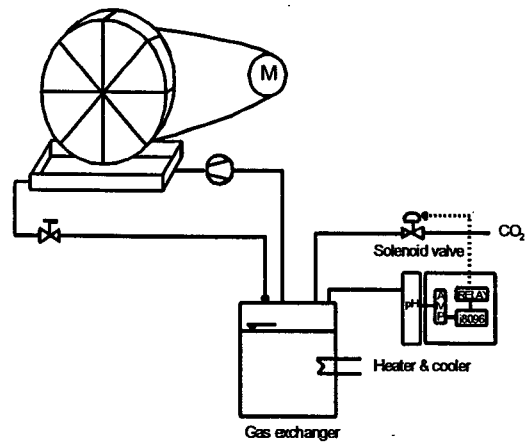


Fig. 6. Schematic representation of a water-wheel type photobioreactor (SS-Pbr).

줄이기 위하여 각 배양조는 밀폐된 배양실에 설치하였다.

나. 증식속도 : *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 는 exponential growth phase에서 다음 식으로 구하였다.

$$\mu_{max} = t^{-1} \cdot \ln (X_2/X_1)$$

여기서 t 는 배양시간, X_1 과 X_2 는 시간 t_1 및 t_2 에서의 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 농도이며, 매일 일정한 시간에 배양액을 고루 혼합한 후 채취하여 750 nm에서 측정된 흡광도 (optical density, O.D.)로 나타내었다. 배양 중에 발생할 수 있는 미생물에 의한 오염여부는 현미경 (OLYMPUS Co., LTD., MODEL CHS)으로 조사하였다.

3. 배양공정의 자동화

pH는 소형의 CPU를 장착한 조절기를 제작, 배양조에 부착시켜 조절하였다. 조절기는 pH와 CO₂ 공급량과의 관계를 이용하여 제작하였다 (Weismann *et al.*, 1987; Boogerd *et al.*, 1990; Chang, 1994). 공급되는 CO₂ 및 단세포 조류의 증식 과정에서의 소비되는 CO₂의 양적 관계에 따라 pH가 변하므로, 배양액이 최적 pH를 유지하도록 CO₂ 공급량을 조절할 수 있도록 하였다. 즉, 모든 배양조에서의 배양액의 순환 과정에서 공통적인 장치인 가스 교환기에서 CO₂의 공급량을 조절하면서 pH를 조절하였다. 조절 장치는 i8096 CPU와 시그널 증폭기, 출력되는 신호에 따라 밸브를 개폐하는 릴레이 부분으로 구성하였다. 일정 시간이 경과한 후 설정치와 비교하여 pH meter에 출력되는 신호가 설정치 (pH 7.0) 이상이던 밸브가 0.5초 동안 개방되어 CO₂가 공급되고, 배양액의 순환에 따라 다시 출력 신호를 받아 판단하는 루프를 이용하여 전체 공정을 조절하였다 (Cho *et al.*, 1997).

결과 및 고찰

해수산 *Chlorella* sp.와는 달리 담수산 *Chlorella vulgaris* 211-11b는 대사과정에서 일반 세균의 성장을 저해하는 chlorellin을 생산하기 때문에 배양과정에서 오염이 그리 심하지 않다고 알려져 있다 (Burlew *et al.*, 1955). 따라서 본 연구에서는 사면배지에서 계대배양한 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 대형 플라스크에서 대량으로 배양한 후, 오염원 차단을 위한 배양실에 설치된 모형 배양조에서 동시에 배양하였다.

Fig. 7에는 각 모형 배양조에서 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 배양하였을 때의 농도 (O.D.) 변화를 측정된 증식 곡선을 나타내었다.

모든 모형 배양조에서 *Chlorella vulgaris* 211-11b는 1일 정도의 lag phase 및 accelerating growth phase와 1일 정도의 exponential growth phase를 거쳐 decelerating growth phase에 접어들었다가, 5일경에 stationary growth phase에 이른 것으로 판단되었다 (Pirt, 1975). 그리고 여섯 종류의 모형 배양조 중, 전반적으로 CT-Pbr, SS-Pbr 및 WT-Pbr에서보다는 HS-Pbr, PT-Pbr 및 RP-Pbr에서 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 증식속도가 빨랐다. 그리고 HS-Pbr, PT-Pbr 및 RP-Pbr에서의 증식속도는 거의 비슷하였으나, 농도로 구분하면 HS-Pbr에서 가장 빨랐으며 그 다음으로는 PT-Pbr 및 RP-Pbr의 순서였다.

Table 1에는 각 모형 배양조에서의 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 exponential growth phase에서의 μ_{max} 및 생

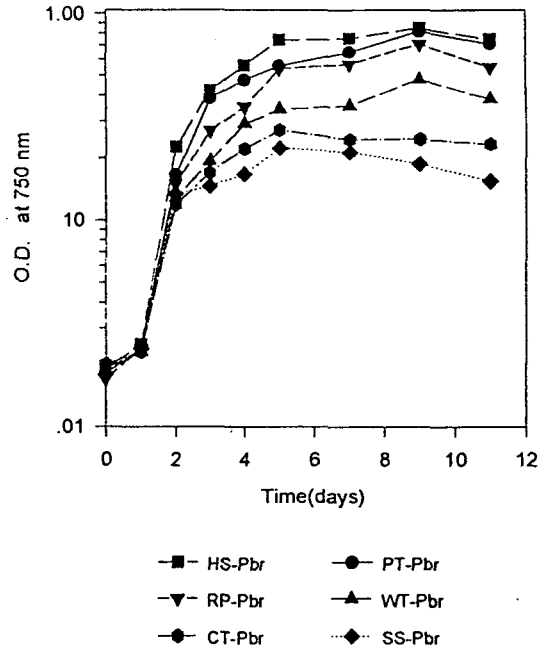


Fig. 7. Growth curves of *Chlorella vulgaris* 211-11b in several types of model photobioreactors.

Table 1. Maximum specific growth of *Chlorella vulgaris* 211-11b in several types of model photobioreactors

Photobioreactors	S/V (m ⁻¹)	μ_{max} (day ⁻¹)	Productivity (g ℓ^{-1} day ⁻¹)
CT-Pbr	40.48	1.644	0.015
SS-Pbr	80.38	1.719	0.010
HS-Pbr	46.20	2.206	0.247
PT-Pbr	113.30	1.928	0.193
RP-Pbr	83.30	1.833	0.150
WT-Pbr	21.23	1.717	0.081
Open pond type Pbr	3.33	0.590	0.005

산성을 비교하여 나타내었다. 모든 모형 배양조에서의 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 및 생산성이 연못 형태의 모형 배양조에서 보다 월등하게 컸다. 이는 연못 형태 배양조의 경우, S/V가 다른 모형 배양조보다 훨씬 작고, 또한 배양 중에 pH가 조절되지 않았기 때문으로 생각되었다.

배양조 HS-Pbr, PT-Pbr 및 RP-Pbr에서의 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 와 생산성은 HS-Pbr에서 가장 컸고, 그 다음으로는 PT-Pbr 및 RP-Pbr의 순서였다. 그러나 이들 세가지 모형 배양의 S/V를 비교하면, 오히려 PT-Pbr이 가장 컸으며 그 다음으로는 RP-Pbr 및 HS-Pbr의 순서여서, μ_{max} 와 생산성이 S/V에 반드시 비례하지는 않았다.

단세포 조류의 배양과정에서 온도와 pH가 일정할 때, 조도가 지나치게 높으면, 잉여의 에너지는 활성산소의 생성을 유발하여 조류의 증식을 저해하나, 정상적인 경우에는 활성산소가 carotenoid에 의하여 열의 형태로 방출된다 (Stryer, 1987). Lim *et al.* (1998)도 해수산 *Chlorella* sp.를 배양하는 과정에서 조도가 지나치게 높은 경우에 이와 같은 증식저해를 확인한 바 있다. 그런데 본 연구에서는 각 모형 배양조에서의 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 체적유량, 그리고 배양조건인 온도, pH 및 조도를 25°C, 7.0 및 12,000 lux로 일정하게 유지하였으며, 단지 S/V만 달리하였다. 따라서 각 모형 배양조에서의 μ_{max} 의 차이는 photosynthetic receptor system-II의 손상에 의한 것이 아니라, 광합성 과정에서 부산물로 생성되는 산소의 배양액 중의 용존량이 많고 적음에 따른 것으로 생각되었다 (Weismann *et al.*, 1987; Facundo *et al.*, 1995).

CT-Pbr의 경우에는 배양액이 빛을 받으면서 원통형 배양조에 머무르는 체류시간이 다른 배양조에 비하여 길어서 광합성 과정에서 생성되는 산소의 배양액 중의 용존량이 많아지고, 그 결과로 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 증식이 저해된 것으로 생각되었다. 그리고 S/V가 CT-Pbr과 비슷한 HS-Pbr은 CT-Pbr과는 달리, 배양액이 빛을 받으면서 계속 공기와 접촉하는 상태에서 폭포처럼 쏟아져 내리기 때문에 배양액 중의 산소가 공기 중에 쉽게 배출될 수 있었고, 그 결과로 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 가 컸던 것으로 생각되었다. WT-Pbr의 경우에도 S/V는 CT-Pbr보다 작지만, 배양액 중의 용존산소가 손쉽게 제거될 수 있어서 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 가 CT-Pbr에서 보다 다소 컸던 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 단세포 조류의 배양에서 비증식속도는 공급받는 빛의 양에 크게 영향을 받지만, 온도, 조도 및 pH가 일정한 경우에는 배양액 중의 용존산소의 농도에도 크게 좌우됨을 의미하는 결과로 생각되었다 (Weismann *et al.*, 1987; Facundo *et al.*, 1995).

HS-Pbr을 PT-Pbr과 RP-Pbr과 비교하면, PT-Pbr과 RP-Pbr이 HS-Pbr보다 S/V가 컸으나, *Chlorella vulgaris* 211-11b의 μ_{max} 는 오히려 HS-Pbr에서 컸었다. 그 이유는 배양조의 구조적인 차이 즉, *Chlorella vulgaris* 211-11b가 빛에 많이 노출될수록 증식이 왕성해지지만, 그에 따라 배양액 중의 용존산소의 농도가 높아지고 용존산소가 오히려 증식저해 요인으로 작용하기 때문으로 생각되었다.

요 약

치어의 먹이사료인 동물성 플랑크톤은 단세포조류인 *Chlorella*를 먹이로 하고 있으며, 우리 나라에서는 현재까지 *Chlorella*를 연못형 배양조에서 배양하고 있다. 본 연구에서는 *Chlorella*의 생산성을 높이기 위하여 *Chlorella* 배양 조건 중, 빛의 공급율을 높이는 데에 중점을 두고 여섯 형태의 모형 배양조를 제작하고 *Chlorella vulgaris* 211-11b의 최대 비증식속도와 생산성을 비교하였다. 모형 배양조 중, μ_{max} 와 생산성이 가장 큰 것은 HS-Pbr이었으며, 최대 비증식속도와 생산성이 반드시 배양조의 S/V에 비례하지는 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 농림수산기술관리센터의 현장애로기술개발 사업의 지원 (1995-1997)에 의해 수행되었으며 이에 감사의 말씀을 드립니다.

참 고 문 헌

- Bae, M., and Y.R. Lee. 1994. Microbiology. Academy Book Co., Seoul, pp. 16~42 (in Korean).
- Boogerd, F.C., P. Bos, J.G. Kuenen, J.J. Heijnen and R.G.J. M. van der Lans. 1990. Oxygen and carbon dioxide mass transfer and the aerobic, autotrophic cultivation of moderate and extreme thermophiles: A case study related to the microbial desulfurization of coal. Biotechnol. Bioeng., 35, 1111~1119.
- Borowitzka, M.A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. J. Appl. Phycology, 7, 3~15.
- Burlew, J. S. 1955. Algal Culture from Laboratory to Plant. Carnegie Institution of Washington Publication 600, Washington, D.C., pp. 39~45.
- Chang, R. 1994. Physical Chemistry. (Joint translated by Seong, Y.G., U.R. Kim, M.J. Lee and U.H. Baek), Hyongseol Publ. Co., Seoul, pp. 330~334 (in Korean).
- Cho, M.G., H.S. Yoo, and J.G. Koo. 1997. Optimization of plate bioreactor system for mass production of microalgae. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 12 (1), 127~130.
- Facundo, J. M., K. Sasaki, N. Nishio, and S. Nagai. 1995. Inhibitory effect of oxygen accumulation on the growth of *Spirulina platensis*. Biotech. Letters, 17 (2), 225~228.
- Gudin, C. and D. Chaumont. 1991. Cell Fragility - The

- key problem of microalgal mass production in closed photobioreactors. *Biores. Technol.*, 38, 145~151.
- Guillard, R.R.L. and J.I.I. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatom. 1. *Cyclotella* Hustedt and *Detonula confervacea* Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229~239.
- Javanmardian, M. and B.O. Palsson. 1991. High density photoautotrophic cultures - design, construction and operation of a noble photobioreactor system. *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 1182~1189.
- Lim, J.Y., M.G. Cho and B.H. Han. 1998. Optimal culture conditions for marine *Chlorella* in a vertical tubular photobioreactor system. *J. Korean Fisheries Soc.*, 31 (1), 139~142 (in Korean).
- Patterson, G.M.L., L.K. Larsen and R.E. Moore. 1993. Bioactive natural products from blue-green algae. *J. Appl. Phycology*, 6, 151~157.
- Pirt, S.J. 1975. *Principles of Microbe and Cell Cultivation*. John Wiley & Sons, New York, pp. 22~23.
- Pulz, O., N. Gerbsch, and R. Buchholz. 1995. Light energy supply in plate and light diffusing optical fiber bioreactors. *J. Appl. Phycology*, 7, 145~149.
- Stryer, L. 1987. *Biochemie*. Vieweg Verlag, Braunschweig, Wiesbaden. pp. 330~332.
- Weismann, J.C., R.P. Goebel, J.R. Beneman. 1987. Photobioreactor design - Mixing, carbon dioxide and oxygen accumulation. *Biotechnol. Bioeng.*, 31, 336~344.

1997년 11월 24일 접수

1998년 7월 4일 수리