

관형 광생물 반응기에서의 *Spirulina platensis* 성장 특성 연구

김용상 · 박호일 · 김동건 · †박대원
한국과학기술연구원 수질환경 및 복원연구센터
(접수 : 2003. 4. 19. 게재승인 : 2003. 7. 4.)

The Growth Characteristics of *Spirulina platensis* in Cylindrical Photobioreactor

Yong-Sang Kim, Ho Il Park, Dong Kun Kim, and Daewon Pak†

† Water Environment and Remediation Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea
(Received : 2003. 4. 19. Accepted : 2003. 7. 4.)

The study of growth characteristics for *Spirulina platensis* were carried out in 400 mL cylindrical photobioreactor and the effects of carbon dioxide concentration and flow rate during the growth of *Spirulina platensis* were investigated. The results showed that relatively low carbon dioxide concentration and high flow rate forced the growth of *Spirulina platensis* in experiment conditions. The pH analysis showed that different carbon dioxide concentration might form particular aqueous carbonate system in culture medium and affect the growth of *Spirulina platensis*. In addition, the possibility of limiting light radiation by cell density was investigated by the analysis of specific growth rate. The result intimated that the cause of decrease of specific growth rate at exponential phase was due to the limitation of light radiation by *Spirulina platensis* cell density in cylindrical photobioreactor.

Key Words : *Spirulina platensis*, carbon dioxide fixation, photobioreactor

서론

이상 기후현상 및 식량 문제가 전 세계적으로 대두되면서 이 문제를 해결하기 위한 다양한 연구가 진행되고 있다. 특히 온실 효과로 유발되는 지구 온난화 현상은 라니냐와 엘니뇨현상을 일으키는 원인 중 하나로서 지구 각 지역에 기상 이변의 주범이 되고 있다. 온실효과를 유발하는 물질로는 이산화탄소 (CO₂), 메탄가스 (CH₄), 아산화질소 (N₂O), 염화불화탄소 (CFC), 오존 (O₃) 등이 있으며, 특히 CO₂의 경우에는 온실효과 가스 중 약 55%를 차지하고 있다(1). 따라서 전 세계적으로 온난화 현상의 원인 물질 중 하나인 CO₂의 배출을 줄이려는 노력의 일환으로 CO₂ 저감 원천기술 개발, 배출되는 CO₂의 회수 및 재활용 등의 연구가 다양하게 진행되고 있다. 이중 광합성 미생물을 이용한 CO₂ 고정화는 환경 조화형 처리기술로서 고밀도 배양에 의한 CO₂ 고정 효율을 증대

시킬 수 있다(2, 3). 특히, 광합성 미생물 중 미세 조류는 간단한 증식구조, 빠른 환경 적응력 그리고 단백질, 지질, 당질, 색소 및 다양한 유기물질을 포함하고 있어 CO₂ 고정화로 인한 온실효과가스 제거 뿐만 아니라 식량원 및 에너지원으로도 이용 가능하다(4). 따라서 광합성 미세 조류를 이용할 경우 지구 온난화 문제와 대체 식량원의 생산으로 인해 현재 인류가 가지고 있는 문제점을 동시에 해결할 수 있다는 점에서 충분한 연구 가치를 지니고 있다.

미세조류 중 남조류에 속하는 *Spirulina platensis*는 광합성을 통해 CO₂를 고정화할 수 있으며 차세대 식량원으로서도 각광 받고 있다. 특히, 높은 단백질 함유량과 비타민, γ -linolenic acid 및 효소 함유량이 풍부하여 다른 식량원에 비해 높은 영양학적 가치를 지니고 있을 뿐만 아니라 다른 동식물과 비교할 때 빠른 성장 속도를 나타내며 알칼리성에 강한 특성을 지니고 있어 알칼리성 폐수 등 여러 환경 분야에 적용할 수 있는 충분한 가능성을 지니고 있다(5-7). 현재 미국과 브라질 등 태양 복사에너지양이 많고 고온이며 경작지로 이용하기 힘든 지역에서 이러한 미세 조류를 대량 생산하려는 연구가 진행 중에 있으며(8), 스페인에서는 산업적 생산을 위해 수로를 이용하여 *S. platensis*를 대량 배양하는 연구가 진행 중에 있는 것으로 보고 되고 있다(9, 10). 또한 광

† Corresponding Author : Water Environment and Remediation Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea

Tel : +82-2-958-5835, Fax : +82-2-958-5804

E-mail : daewon@kist.re.kr

생물 반응기를 이용하여 대량 생산시 광효율을 증대시키기 위해 광생물 반응기 설계에 관한 연구도 수행된 바 있다(11).

우리나라의 경우 사계절이 뚜렷하고 계절에 따른 온도 변화 및 일조량의 차이가 심하기 때문에 *S. platensis*의 생산에만 초점을 맞출 경우 지나친 원가 상승의 문제점이 야기된다. 따라서 *S. platensis*를 이용한 산업 시설에서 방출되는 CO₂를 이용한 CO₂ 고정화, 사료화 가능성, 폐수 처리 가능성의 분석을 통한 환경 조화형 처리기술로서 발전시키는 것이 타당하다. 현재 국내에서는 닫힌 시스템 내의 공간에 CO₂로 대체 후 시간에 따른 *S. platensis*의 CO₂ 고정화 능력(12), *S. platensis*의 옥외배양 가능성(13), *S. platensis*의 축산폐수 처리 적용(14) 등에 관한 연구가 진행되었다. 국내에서 *S. platensis*를 이용한 환경 조화형 처리기술을 개발할 경우 탄소원은 연속적으로 방출되어 나오는 CO₂ 기체를 이용하는 연구가 필요하다고 판단되며, 특히 CO₂ 고정화 효율을 높이기 위해서는 반응기의 설계, 혼합 기체 내의 CO₂ 농도 뿐만 아니라 기체 유속 및 CO₂ 기체의 배지내로의 물질전달 등을 고려하여야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 연속적으로 공급되는 혼합 CO₂ 기체를 이용한 *S. platensis*의 CO₂ 고정화 특성을 분석하기 위한 기초 연구로서 연속적으로 투입되는 혼합 CO₂ 기체에서의 *S. platensis*의 CO₂ 고정화 특성 및 *S. platensis*의 성장 변화 특성을 관찰하기 위해 관형 광생물 반응기를 이용, 투입되는 CO₂ 혼합기체의 유속 및 CO₂ 농도를 달리 하였을 때 *S. platensis*의 성장 변화 특성을 관찰하고 분석하였다.

재료 및 방법

균주와 배지

본 연구에 사용된 균주는 미국 텍사스 주립대학교에서 분양 받은 *S. platensis* (UTEX LB 2340)를 사용하였다. 균주 배양에 사용된 배지는 알칼리성 무기배지로서 조성은 Table 1 및 Table 2에 나타내었다(15). 배지는 고압멸균기에서 12 1°C, 15분간 멸균 후 사용하였다. 균주 배양은 250 mL 삼각플라스크를 이용, 교반 배양기내에서 초기 pH 9.5, 온도 30°C, 교반 속도 120 rpm, 12시간 명반응-12시간 암반응을 유지하며 배양하였으며 명반응 동안은 형광등을 이용, 25 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 - \text{sec}$ 을 유지하였다.

Table 1. Components of culture medium (in 1 L of distilled water)

Components	Amount
NaHCO ₃	13.61 g
Na ₂ CO ₃	4.03 g
K ₂ HPO ₄	0.50 g
NaNO ₃	2.50 g
K ₂ SO ₄	1.00 g
NaCl	1.00 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.20 g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.04 g
PIV metal solution	6 mL
Chu micronutrient solution	1 mL
Vitamin B ₁₂ (1mg/1000 μL H ₂ O)	150 mL

Table 2. Components of PIV metal solution and Chu micronutrient solution (in 1 L of distilled water)

Components (mg)	PIV metal solution	Chu micronutrient solution
Na ₂ EDTA	750.0	750.0
MnCl ₂ · 4H ₂ O	41.2	12.8
CoCl ₂ · 6H ₂ O	2.0	20.0
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	4.0	12.8
FeCl ₃ · 6H ₂ O	97.2	-
ZnCl ₂	5.2	-
H ₃ BO ₃	-	618.0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	-	19.6
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	-	44.0

관형 광생물 반응기 실험

S. platensis 성장 실험은 직경 4 cm, 길이 65 cm 인 400 mL 용량의 관형 광생물 반응기를 이용하였다. 본 실험에서는 공기와 CO₂ 혼합기체를 원활히 관형 광생물 반응기에 공급하기 위해 air pump, CO₂ bombe, 기체 혼합기를 이용, 각각의 부피비로 혼합하여 사용하였으며 반응기로 들어가는 입구에 0.2 μm 필터를 이용, 이물질 및 미생물로 인한 오염을 방지하도록 하였다. 또한 각각 반응기 내부에 동일한 sparger를 두어 혼합되는 기체가 미세한 기체 방울을 유지하도록 함으로 인해 배지와 혼합 기체 사이에 CO₂ 물질전달 효과를 높이도록 하였다. 광원은 형광등을 반응기 양면에 배치하여 반응기내로 빛이 원활히 공급되도록 하였다. 본 실험의 전체 반응 공정은 Fig. 1에 나타내었다.

본 실험에서는 관형 광생물 반응기내에 주입하는 혼합 기체의 CO₂ 농도와 유속에 따른 *S. platensis*의 성장 특성을 분석하고자 하였다. 접종은 알칼리성 무기배지에서 배양된 *S. platensis*를 이용하였으며 관형 광생물 반응기내에서 *S. platensis* 배양에 사용된 배지 역시 Table 1에 나타낸 조성 비율의 배지를 사용하였다. 실험 방법은 멸균된 배지와 교반 배양기내에서 배양된 *S. platensis*를 건조 균체량 기준으로 0.1 g/L을 접종하여 400 mL 접종 배지를 만들어 멸균된 관형 광생물 반응기내에 주입하였으며, 반응기내에는 3% CO₂ 혼합기체 50 mL/min, 3% CO₂ 혼합기체 150 mL/min, 6% CO₂ 혼합기체 50 mL/min, 6% CO₂ 혼합기체 150 mL/min의 농도와 유속으로 각각의 관형 광생물 반응기내에 흘려주었다. 접종 직후 배지의 pH는 9.5였으며, 관형 광생물 반응기내의 온도는 water circulator를 이용하여 30°C를 유지하였고, 광도는 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 - \text{sec}$ 을 실험 진행 동안 일정히 유지하였다.

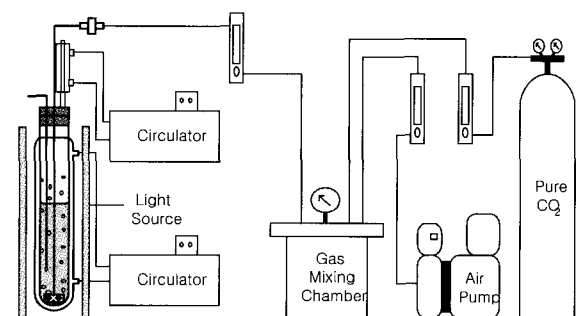


Figure 1. Cylindrical photobioreactor system.

분석 방법

균체량은 UV spectrophotometer (U-2000 Hitachi)를 이용하여 660 nm에서 측정된 O.D.값 (Optical Density)과 건조 균체량과의 상관식 (건조균체량 = $0.4289 \times O.D.$, $r^2 = 0.99$)을 이용하여 계산하였다. 반응이 진행됨에 따른 배지내의 pH 변화를 알아보기 위해 pH meter (HI8424, Hanna Instrument)를 이용하여 pH를 측정하였으며, 배지내 *S. platensis*의 성장에 필수 성분인 인과 질소원 농도를 분석하기 위해 Ion Chromatography (IC, DX-120 Dionex)를 이용하여 인 및 질소원의 농도를 분석하였다. Table 3에는 *S. platensis* 초기 배지의 IC 분석 결과를 나타내었다.

Table 3. Initial concentrations of nitrogen and phosphorus in culture medium

Unit (ppm)	Initial Concentration
NO ₂ -N	-
NO ₃ -N	305.0
PO ₄ -P	73.0

결과 및 고찰

관형 광생물 반응기에서의 *S. platensis* 성장 곡선

CO₂ 농도 및 유속을 다르게 하였을 때의 시간에 따른 *S. platensis*의 성장 변화 곡선은 Fig. 2에 나타내었다. 실험 결과 3% CO₂ 150 mL/min 조건에서 가장 좋은 균체 성장을 보였고, 3% CO₂ 50 mL/min과 6% CO₂ 150 mL/min 조건에서는 유사한 균체 성장을 보였으며, 6% CO₂ 50 mL/min 조건에서는 가장 낮은 균체 성장을 보였다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 같은 농도의 CO₂를 흘려주었을 때 유속에 따른 균체 성장 변화를 분석한 결과 각각의 CO₂ 농도 3% 와 6%에서 모두 유속이 150 mL/min 인 조건이 50 mL/min 인 조건보다 *S. platensis*의 균체 성장이 원활함을 알 수 있었다. 광합성 미세조류인 *S. platensis*는 지수 성장기 (exponential phase)에 있을 경우 *S. platensis*의 지속적인 CO₂ 고정화로 인해 배지내에 해리되어 있는 CO₂의 소비량이 증가하는데, 이때 혼합기체와 배지내의 CO₂ 농도 구배로 인해 배지내로의 CO₂ 물질 전달을 촉진하게 된다. 혼합 기체의 유속을 달리한 본 연구에서는 상대적으로 빠른 유속인 150 mL/min 경우가 50 mL/min 경우 보다 더 원활한 CO₂ 공급이 가능하기 때문에 *S. platensis*가 지수 성장기에 있을 때 단위 시간당 상대적으로 많은 CO₂를 배지내로 공급할 수 있는 유속이 *S. platensis*의 성장에 더 유리함을 예상할 수 있다. 또한 Nobutaka 등(16)은 미세조류인 *Scenedesmus*를 CO₂ 혼합기체를 이용하여 배양한 연구 결과에서 유속이 빠른 경우가 더 좋은 균체 성장을 보인다고 보고한 바 있으며 그 이유로 유속에 따른 유속 bubbling 형태 변화에 기인한다고 예상하였다. 따라서 본 연구 결과 유속이 150 mL/min 경우 배지내로의 CO₂ 공급 및 유속 형태가 50 mL/min 인 경우에 비해 *S. platensis* 균체 성장에 유리한 조건임을 예상 할 수 있다.

관형 광생물 반응기내로 흘려주는 혼합기체의 유속이 같을

때 CO₂ 농도에 따른 균체 성장 변화를 분석한 결과, CO₂ 농도가 3%일 때가 6%일 때에 비해 *S. platensis*의 균체 성장이 원활히 이루어짐을 알 수 있었다. 일반적으로 알려진 광합성 미생물의 경우 5-10% CO₂ 혼합기체 농도에서 성장 저해작용이 있는 것으로 보고 되고 있는데(17), 실험 결과 본 실험 조건에서 *S. platensis*는 3% CO₂ 농도가 6% CO₂ 농도인 경우보다 *S. platensis*가 성장에 유리함을 알 수 있었다.

*S. platensis*가 정지기에 들었을 때의 최대 건조 균체량을 분석한 결과는 Table 4에 나타내었다. *S. platensis*의 최대 균체량 역시 3% CO₂ 150 mL/min 조건이 6.09 g/L로서 4.22 g/L의 최대 건조 균체량을 보인 6% CO₂ 50 mL/min 조건에 비해 높은 값을 나타냄을 알 수 있었다.

모든 조건에서 *S. platensis*는 균체 성장이 정지기로 들어갈 때 IC 분석을 통해 인 및 질소원을 분석한 결과 질소원은 모든 실험조건에서 0 ppm이었고, 인은 모든 실험 조건에서 30 ppm 이내의 값을 보였다. 미세조류가 회분식 광생물 반응기에서 정지기로 가는 이유는 광저해 효과, 미세조류의 대사산물에 의한 독성, 광생물 반응기의 크기, 및 영양소원의 고갈 등이 주된 요인으로 볼 수 있는데, 실험 분석 결과 본 실험 조건에서 영양소원의 고갈이 *S. platensis*는 균체 성장이 정지기로 진입하게 되는 원인 중 하나로 작용한 것으로 판단 된다.

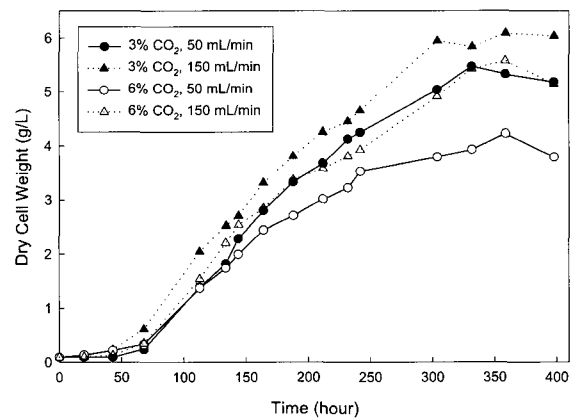


Figure 2. Growth curve of *S. platensis* at different CO₂ concentration and flow rate.

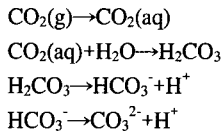
Table 4. Value of maximum dry cell weight

CO ₂ concentration (%)	3%		6%	
flow rate (mL/min)	50	150	50	150
maximum dry cell weight (g/L)	5.47	6.09	4.22	5.58

조건에 따른 배지내 pH 변화

Fig. 3은 각각의 조건에서 관형 광생물 반응기내 배지의 시간에 따른 pH 변화를 나타내었다. Fig. 3에서 볼 수 있듯이 관형 광생물 반응기내로 들어가는 CO₂ 혼합기체 농도가 같은 경우에는 유속에 상관없이 시간에 따른 pH 변화가 유사함을 알 수 있다. 또한 초기 시간을 제외하고는 각각의

CO₂ 혼합기체 농도에 따른 pH 변화가 3% CO₂ 의 경우 pH 8.8±0.2, 6% CO₂ 의 경우 pH 8.5±0.2 범위내에서 일정하게 유지됨을 알 수 있다. 이는 배지내에 해리되는 CO₂가 형성하는 탄산염 시스템으로 설명할 수 있다. 일반적으로 CO₂가 수계에서 형성하는 탄산염 화학종은 다음과 같다(18).



본 반응에서 pH에 영향을 주는 주요 인자는 CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻이며 일반적으로 수계에서 CO₂ (aq)는 pH 4~5, HCO₃⁻는 pH 8~9, CO₃²⁻는 pH 10~11 범위를 나타낸다. 또한 수계의 pH는 이들의 평형 관계에 따라 달라지고, 평형관계는 온도, CO₂ 분압, 수계의 특성에 따라 좌우된다(18). 따라서 본 연구 결과로부터 추론해 볼 때, 각각의 CO₂ 혼합기체 농도에서 배지내로 CO₂가 해리될 때 각각의 특별한 탄산염 시스템을 형성함을 예상할 수 있으며, 이로 인해 형성되는 pH의 변화가 *S. platensis*의 성장에 영향을 주는 요인 중 하나로 예측할 수 있다. 하지만 pH 변화가 *S. platensis*의 성장에 미치는 영향을 구체적으로 밝히기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

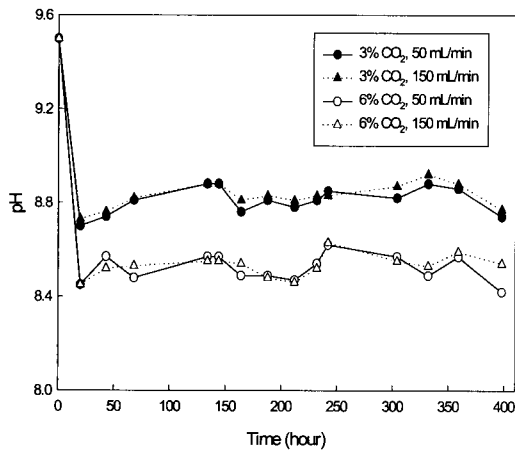


Figure 3. pH change during the growth of *S. platensis* at different CO₂ concentration and flow rate.

시간에 따른 비성장 속도 변화

일반적으로 미생물의 성장에 있어서 지수 성장시 성장 속도는 다음과 같은 식으로 나타낼 수 있다(19).

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \tag{1}$$

여기서 x 는 미생물의 농도(g/L), t 는 시간($hour$), μ 는 비성장 속도($hour^{-1}$)를 나타낸다.

식 (1)을 각각의 시간 t_1 , t_2 와 그 때 각각의 미생물 농도 x_1 , x_2 에서 변수 분리하여 적분한 후 비성장 속도에 관해 정리하면,

$$\mu \int_{t_1}^{t_2} dt = \int_{x_1}^{x_2} \frac{1}{x} dx \tag{2}$$

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} \tag{3}$$

식 (3)을 얻는다.

Fig. 4에는 식 (3)으로부터 얻은 각각의 조건에서의 시간에 따른 비성장 속도를 나타내었다. 비성장 속도를 시간에 따라 분석한 결과, 모든 실험 조건에서 시간이 지남에 따라 비성장 속도가 감소함을 알 수 있었다. 만약 본 조건에서 *S. platensis*의 지수 성장기 동안 성장에 저해 요인이 없다면 식 (3)은 일차 곡선을 따르고, 비성장 속도는 시간에 관계없이 일정한 값을 보여야 한다(19, 20). 따라서 지수 성장기에서 *S. platensis*의 비성장 속도 분석 결과, 모든 실험 조건에서 동일하게 성장 저해 인자가 있음을 알 수 있으며, 이 주요 저해 원인은 지수 성장시 성장하는 *S. platensis*의 농도 증가가 오히려 관형 광생물 반응기로 조사되는 빛 에너지의 투과도를 약화시켜 관형 광생물 반응기내의 모든 *S. platensis*에 빛의 원활한 전달을 방해하기 때문이라 판단된다.

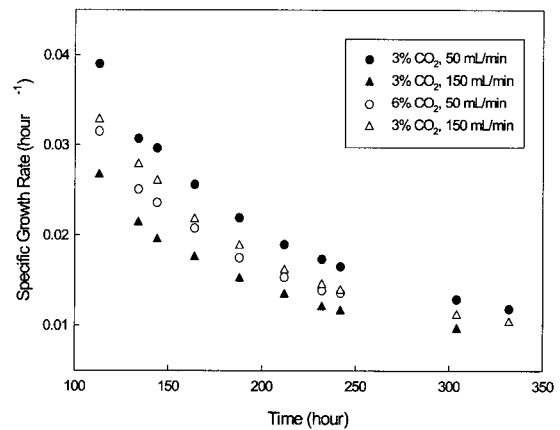


Figure 4. Change of specific growth rate during the growth of *S. platensis* at different CO₂ concentration and flow rate.

Fig. 4에서 보는바와 같이 같은 시간에 비성장 속도 크기는 조건이 3% CO₂ 50 ml/min, 6% CO₂ 150 ml/min, 6% CO₂ 50 ml/min 그리고 3% CO₂ 150 ml/min의 순서로 큰 값을 보였다. 모든 분석 결과에서 가장 좋은 *S. platensis*의 성장 조건을 보인 3% CO₂ 150 ml/min 경우가 가장 낮은 비성장 속도 값을 보였는데 이는 이미 같은 시간에 관형 광생물 반응기내의 *S. platensis*의 균체 밀도가 가장 높기 때문인 것으로 판단된다. 반면 6% CO₂ 50 ml/min 조건은 같은 시간에 가장 낮은 *S. platensis* 균체 밀도를 보임에도 불구하고

고 비성장 속도가 3% CO₂ 혼합기체 50 ml/min와 6% CO₂ 혼합기체 150 ml/min 조건의 비성장 속도 보다 낮는데, 이는 본 조건에서 *S. platensis* 성장에 상대적으로 좋지 않은 CO₂ 혼합기체 농도, 유속 등의 요소가 비성장 속도에 반영되었기 때문인 것으로 판단된다.

요 약

관형 광생물 반응기를 이용하여 반응기내로 들어가는 CO₂ 혼합기체의 농도와 유속에 따른 *S. platensis* 성장 특성을 분석하였다. *S. platensis* 성장 곡선을 분석한 결과 3% CO₂ 혼합기체를 150 ml/min의 유속으로 흘려 줄 때 가장 빠른 성장 특성을 보여 주었다. 반면 6% CO₂ 혼합기체 50 ml/min 경우는 본 실험 조건 중 *S. platensis* 성장에 유리하지 않음을 알 수 있었다. 시간에 따른 접종 배지의 pH 변화를 분석한 결과 관형 광생물 반응기내로 흘려주는 유속에 상관없이 CO₂ 혼합기체 농도에 따라 일정한 pH를 형성함을 알 수 있었다. 이는 접종 배지내에 일정하게 흘려주는 CO₂ 기체로 인해 배지내에 탄산염 시스템이 형성됨을 예측할 수 있었다. 또한 시간에 따른 비성장 속도를 분석한 결과 모든 실험 조건에서 지수성장기 동안 비성장 속도가 감소하는 경향을 보였으며 이는 광합성 미세조류인 *S. platensis*의 농도 증가가 오히려 관형 광생물 반응기로 복사되는 빛 에너지의 투과도를 약화시켜 *S. platensis*의 성장을 저해 한다고 볼 수 있다.

감 사

본 연구는 과학기술부에서 주관하는 온실가스 저감기술개발 사업단의 지원으로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- IPCC : Climate Change (1995), Report of the intergovernmental panel on climate change, WMO/UNEP.
- Oh, H. M., J. S. Kim, and S. J. Lee (1998), Biological fixation of global warming gas by microalgae, *Kor. J. of Environ. Biol.* **16**(4), 291-297.
- Kim, T. H., K. D. Sung, J. S. Lee, J. Y. Lee, S. J. Oh, and H. Y. Lee (1997), Biological fixation of carbon dioxide using photosynthetic microalga *Chorococcum littorale*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**(3), 235-239.
- Joo, D. S., M. G. Cho, R. Buchhloz, and E. H. Lee (1998), Growth and fatty acid composition with growth conditions for *Spirulina platensis*, *J. Kor. Fish. Soc.* **31**(3), 409-416.
- Rippka, R., J. Deruelles, J. B. Waterbury, M. Herdman, and P. G. Roughan (1989), *Spirulina*: A sources of dietary gamma-lionenic acid, *J. Sci. of Food and Agriculture* **47**, 295-306.
- Babu, S. C. and B. Rajasekaran (1991), Biotechnology for rural nutrition, *Food Polocy* **9**, 405-414.
- Becker, E. W. and L. V. Vanattaraman (1984), Production and utilization of the blue green algae *Spirulina* in India, *Biomass* **4**, 105-125.
- Jorge, A. V. C., A. L. Giani, I. P. A. Daniel, M. M. Guilherme, and T. K. Roselini (2000), Modeling of growth condition for cyanobacterium *Spirulina platensis*, *World J. of Microbiol. and Biotechnol.* **16**, 15-18.
- Carlos, J., R. C. Belen, L. Diego, and N. Xavier (2003), The feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain, *Aquaculture* **217**, 179-190.
- Carlos, J., R. C. Belen, and N. Xavier (2003), Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a pedictive model of algal yield, *Aquaculture* **221**, 331-345.
- Vernerey, A., J. Albiol, C. Lasseur, and F. Godia (2001), Scale-up and design of a pilot-plant photobioreactor for the continuous culture of *Spirulina platensis*, *Biotechnol. Prog.* **17**, 431-438.
- Lee, K. Y., J. H. Park, and B. S. Park (1997), CO₂ fixation and single cell protein production using blue green algae, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**(1), 106-108.
- Sung, K. D., J. H. Ann, J. Y. Lee, S. J. Ohh, and H. Y. Lee (1995), Kinetics of cultivating photosynthetic microalga, *Spirulina platensis* in an outdoor photobioreactor, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **10**, 401-405.
- Sung, K. H., J. H. Lee, Y. S. Park, H. K. Kim, H. K. Yu, S. J. Ohh, and H. Y. Lee (1994), The treatment of swine wastes and the production of high protein feedstocks from photoheterotrophic growth of *Spirulina platensis*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**(2), 197-202.
- Schlosser, U. G. (1994), SAG-sammlung von algenkulture at the University of Gottingen, *Botanica* **107**, 111-186.
- Hanagata, N., T. Tkaeuchi, Y. Fukeju, D. J. Barnes, and I. Karube (1992), Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature, *Phytochemistry* **31**(10), 3345-3348.
- Lee, J. Y., H. A. Kang, and J. W. Yang (1999), The characteristics of carbon dioxide fixation by *Chlorella sp.* HA-1 in semi-continuous operation, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **14**(6), 742-746.
- Werner, S. and J. M. James (1994), *Aquatic chemistry*, Third edition, p157, A Wiley Interscience Publication, New York.
- Peter F. S., W. Allen, and J. H. Stephen (1995), *Principles of Fermentation Technology*, Second Edition, p13, Pergamon.
- Avigad, V. (1997), *Spirulina platensis* (*Arthrospira*), 1st edition, p43-45, Taylor & Francis.