

발광다이오드를 이용한 클로렐라 배양 연구 Cultivation of *Chlorella* Sp. Using Light Emitting Diode

이태윤[†] · 최보람 · 이제근 · 임준혁
Taeyoon Lee[†] · Boram Choi · Jea-Keun Lee · Jun-Heok Lim

부경대학교 환경공학과
Department of Environmental Engineering, Pukyong National University

(2011년 8월 24일 접수, 2011년 8월 29일 채택)

Abstract : The purpose of this study was to determine optimum conditions for the cultivation of *Chlorella* sp. FC-21 using light emitting diodes (LEDs). Specific growth rate and cell concentration were measured for the reactors at the illuminations of different wavelengths of LEDs. Among various types of LEDs, red LEDs were the most effective light source, and also greatest increases of specific growth rate and cell concentrations were obtained when light intensity of red LEDs increased. The specific growth rate decreased when initial cell concentration increased due to the shading effect of each cell in the reactor. To determine beneficial effect of aeration to cell cultivation, micro-air bubbles were aerated at 0.35 vvm in the reactor at the illumination of red LEDs. Two and ten times greater specific growth rate and cell concentration were obtained when aeration was applied. From this study, we found that red LEDs with aeration were the most appropriate light source for the cultivation of *Chlorella* sp. FC-21.

Key Words : Light Emitting Diodes, *Chlorella* sp. FC-21, RED LEDs, Carbon Dioxide, Photobioreactor

요약 : 본 연구는 담수미세조류의 일종인 클로렐라를 발광다이오드를 이용하여 효율적으로 배양하기 위한 조건을 찾기 위해 수행되었다. 클로렐라 배양에 최적인 파장을 찾기 위해 청색, 적색, 백색, 그리고 혼합광을 클로렐라가 포함된 반응기에 각각 조사하여 성장속도 및 셀농도를 측정하였다. 적색파장이 클로렐라의 성장에 가장 효율적이었으며, 광량이 증가할수록 성장속도 및 셀농도도 광량에 비례하여 가장 많이 증가하였다. 클로렐라의 초기 농도에 따른 성장속도는 초기 농도가 증가함에 따라 그림자 효과에 의해 감소하였다. 공기 공급에 따른 성장특성을 살펴보기 위해 반응기에 미세공기를 연속적으로 주입하였는데, 반응속도 및 셀농도는 공기를 주입하지 않은 경우에 비해 2배와 10배 증가함을 알 수 있었다. 본 연구를 통해 클로렐라를 효과적으로 배양하기 위해서는 적색파장의 발광다이오드를 광원으로 사용하고 반응기에 공기를 연속적으로 주입하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

주제어 : 발광다이오드, 클로렐라, 적색파장, 이산화탄소, 광반응조

1. 서론

생태계 전반에 걸쳐 식물성 플랑크톤에 의한 유기물의 연 중 생산량은 1×10^{11} 톤으로 추정되고 있다. 식물성 플랑크톤, 즉 미세조류는 어패류 양식을 위한 먹이생물로 이용되거나,¹⁾ 연료, 단백질 및 천연색소 등의 고부가가치 소재의 공급원으로 사용될 수 있어, 이에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다.^{2,3)}

이 중에서 미세조류(microalgae)를 바이오디젤의 원료로서 사용하는 것에 대해 많은 관심을 불러오고 있는데, 이는 바이오디젤 생산 이 기존 재료를 이용한 생산보다 많은 장점이 있기 때문이다.^{4,5)} 예를 들면, 바이오디젤의 에너지 근원은 태양에너지이므로 고갈 문제가 없으며, 연소 시 발생하는 CO₂는 식물 또는 광합성 작용으로 회수되므로 탄소 중립적이다. 또한 자연분해도가 높아서 환경에 유출되어도 오염의 가능성이 낮다고 할 수 있다.

현재 실용화되어 쓰이는 바이오디젤 원료의 대부분은 triacylglycerol (TAG)로 이루어져 있는 식물성 유지가 차지하고 있다.^{6,7)} 향후 늘어날 바이오디젤의 수요를 고려할 때

기존 유지 작물의 사용은 광범위한 재배 부지와 식용곡물의 부족이라는 심각한 문제를 야기할 수 있다. 이에 반해 미세조류는 식용으로 쓰이지 않으며, 다른 유지 작물과는 달리 빠르게 성장하여 단위면적당 생산량이 월등히 높은 특성을 가지고 있다. 미세조류를 이용한 바이오디젤의 단위면적당 생산량은 최대 136,900 L/ha/yr인데,⁸⁾ 이는 옥수수 172 L/ha/yr,⁸⁾ 콩 446~636 L/ha/yr,⁹⁾ 야자열매 5,366~5,950 L/ha/yr^{8,9)}의 생산량에 비해 높은 것으로 보고가 되었다.

미세조류의 대량배양에 사용되는 시스템은 밀폐여부에 따라 개방형 raceway pond와 밀폐형 광생물반응기로 구분된다.⁸⁻¹⁰⁾ 개방형 raceway pond는 가장 널리 쓰이는 형태로서 약 0.1~0.3 m 정도의 깊이를 가진 수로로 구성이 되어 있다. 이 방법은 시공, 유지 및 보수가 쉬워 가장 오래전부터 사용되어 오고 있으나, 대기 중 이산화탄소의 비효율적 사용 및 배양액의 불완전 혼합으로 바이오매스의 농도가 낮으며 외래종 미세조류 및 미생물에 의한 오염의 가능성이 큰 단점이 있다. 이에 반해 밀폐형 광생물반응기는 오염의 문제가 없고 온도조절이 용이한 장점이 있으나, 개방형에 비해 초기 구축비용이 크다는 단점이 있다. 다양한 형태의

[†] Corresponding author E-mail: badger74w@pknu.ac.kr Tel: 051-629-6530 Fax: 051-620-8166

광생물반응기 중 관형 광생물반응기가 널리 사용이 되는데, 설계 핵심요소는 반응기의 부피 대비 표면적의 비율을 최대한 크게 하는 것이다.^{8,10,11)} 비록 초기 투자비가 높은 단점에도 불구하고 단위면적당 생산량을 고려할 때 광생물반응기가 훨씬 경제적인 것으로 판단된다.⁸⁾

미세조류는 광합성을 통해 성장하기 때문에 기본적인 에너지원으로 빛, 이산화탄소, 물, 그리고 기타 영양소가 필요하다. 빛 에너지의 경우 태양광이나 인공조명으로 형광등을 사용하며, 이산화탄소의 경우 대기 중 이산화탄소를 사용하거나 필요할 경우 이산화탄소를 따로 공급해 주기도 한다. Ichimi et al.의 경우¹²⁾ 발전소 또는 제철소에서 방출되는 이산화탄소를 이용하여 미세조류를 배양하기도 하였다. 이 경우 이산화탄소 구입비용은 들지 않으나 높은 이산화탄소 농도(~15% v/v)에 따른 미세조류 성장 저해문제가 발생하기도 하였다.

개방형 혹은 밀폐형 미세조류의 광배양 시스템에 있어 광원 및 광세기는 미세조류의 광합성 성장에 있어 가장 중요한 인자로 인식되고 있다.¹³⁾ 개방형 배양의 경우 태양광이 가장 일반적인 광원이나 밀폐형 배양의 경우에는 형광등이 가장 많이 사용된다. 그러나, 형광등은 높은 유지비용 및 과도한 발생열로 인해 최근 광원으로 연구되는 발광다이오드(Light Emitting Diodes, LEDs), 광섬유(Optical fiber)에 비해 배양효율 및 경제성이 낮은 것으로 인식되고 있다.¹⁴⁾ 이중 발광다이오드(LEDs)는 해당 미세조류의 광합성에 필요한 파장의 빛만 선택적으로 공급하여 전체적인 빛의 이용 효율성을 높일 수 있다. Wang et al.의 경우¹⁵⁾ 적색 LED(파장 660 nm)를 이용하여 *Spirulina platensis*에 대해 높은 배양효율을 보여주었으며, *H. pluvialis*의 경우에는 청색 LED(파장 460 nm) 사용 시 astaxanthin의 생산효율이 증가하였다.¹⁶⁾ Lee and Palsson은 *Chlorella pyrenoidosa*의 배양에 다양한 파장의 LED를 조합하여 최적의 배양조건을 연구하였다.¹⁷⁾

본 연구에서는 다양한 파장의 LEDs를 미세조류 *Chlorella* sp. FC-21 배양에 활용하여 그 적용성을 검증하고자 하였으며, 다양한 파장의 광조건에서 *Chlorella* sp. FC-21의 성장특성을 관찰하여 최적성장에 필요한 파장을 찾아내고 대량생산에 필요한 운전조건을 도출하여 바이오디젤의 원료로 사용하는데 있어 가능성 및 경제성을 검증하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료

2.1.1. 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 *Chlorella* sp. FC-21로 한국해양 미세조류은행(KMMCC, Korea)으로부터 분양받았다. 사용된 배지는 Table 1에 나타낸 바와 같은 성분의 JM배지(Jaworski's Medium, Thompson et al., 1988)를 조제하여 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

Table 1. Jaworski's medium composition
(Unit: mg/L Deionized Water)

Component	Contents
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	20
KH ₂ PO ₄	12.4
MgSO ₄ · 7H ₂ O	50
NaHCO ₃	15.9
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	36
NaNO ₃	80
EDTA FeNa	2.25
EDTANa ₂	2.25
H ₃ BO ₃	2.48
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.39
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	1.00
cyanobalamin	0.04
thiamine HCl	0.04
biotin	0.04

2.2. 실험방법

2.2.1. 광조사 챔버 제작

Chlorella sp. FC-21의 성장 실험은 LED 빛의 파장에 따른 성장 속도를 비교하기 위해서 외부 빛을 차단한 반응시스템을 구축하였다. 광원으로는 중심 파장 660 nm로 발광하는 적색 LED, 450 nm 파장의 청색 LED, 백색 LED, 복합 LED1 (RED : WHITE : BLUE = 1 : 1 : 1), 복합 LED2 (RED : BLUE = 3 : 1)로 각각 제작하였다. 반응기는 가로 60 cm, 세로 60 cm, 높이 60 cm와 가로 55 cm, 세로 35 cm, 높이 46 cm 크기로 검은색 아크릴을 이용하여 제작하였다. LED 램프는 S-tech LED사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다(Ilsan, Kyongki, Korea). LED에 공급되는 전원은 모델 FP-60-12 파워공급기를 사용하였으며(Whawoo Tech. Co., Ilsan, Korea), 광원은 반응기의 상부에 설치하여 위에서 아래로 광을 공급하였다. 조도 및 광량의 조절은 반응시스템 외부를 둘러싼 반사판의 개폐정도에 따라 조절하였다. 총 3단의 반응조로 구성되어 있는데, 가장 낮은 1단에는 Mixed 형태의 조명이 설치되었고, 2단에는



Fig. 1. Photograph of photo-reactor system used in this study.

백색 조명, 가장 높은 3단에는 적색 조명이 설치되었다. 각 단에 공급되는 전력은 68.4 W로 일정하게 유지되었다. 조도와 광량은 조도계(I-346 Illuminometer, Sekonic Co., Philippines)와 광량계(MQ-306, Apogee Instruments, Inc., Logan, UT)를 사용하여 각각 측정하였다.

2.2.2. 미세조류 배양

Chlorella sp. FC-21의 성장특성은 각 실험조건에 따라 100 mL 용량의 비이커에 희석한 초기배양액을 접종하여 계획한 초기농도로 맞춘 후 외부로부터의 오염을 막기 위하여 호기성 배양에 적합한 실리스토퍼를 사용하여 실험을 실시하였다.

또한 sparging에 따른 효과를 알아보기 위해 적색 LED 아래 4개의 코니칼 비커(운전용량 : 500 mL)를 사용하여 파라필름을 이용해 비커의 입구를 막은 후 미세 구멍을 뚫어 주었으며 4개의 반응기 중 하나의 반응기의 바닥 부분에 고정시켜 배양액이 혼합되도록 설치하였다. 이때 주입된 공기의 공급 속도는 0.35 vvm이었다. 온도조절은 실험실에 설치된 온도조절장치를 이용하여 반응기의 온도를 21~23°C로 일정하게 유지하였다. 배양액의 온도는 수온온도계를 이용하여 측정하였다.

첫 번째 실험의 경우 반응기의 외부를 둘러싼 반사판을 모두 개방하여 조도와 광량을 최소값으로 설정한 후 실험을 실시하였다. 총 4가지 형식; RED, BLUE, WHITE, MIXED 형태의 LEDs를 반응조 각 단에 설치 후 배양을 실시하였다. 혼합형태의 LEDs는 RED, WHITE, BLUE LEDs 판을 각 1개씩 설치하여 운영하였다. 4개 조명시스템에 투입된 전력은 각각 68.4 W로 일정하게 공급하였다. WHITE LEDs의 경우 6,900 Lux로 가장 높은 조도값을 보여주었으나 광합성에 사용되는 빛의 양을 나타내는 광량은 102 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였다. BLUE의 경우 조도는 1,900 Lux였으나 광량은 가장 높은 165 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였다. RED의 경우 조도는 1,700 Lux, 광량은 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 가장 낮은 값을 나타내었다. MIXED의 경우 중간정도의 조도인 4,000 Lux 및 광량 115 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 값을 보여주었다.

2.3. 분석방법 및 데이터 해석

세포 농도(cells/mL)는 성장 측정을 위해서 Hemocytometer를 이용하여 광학현미경(AE2000, Motic, China)을 통해 직접 계수하였다. 균체 건조량과 세포농도와의 관계를 알기 위해서 균체 건조량(g/L)은 50 mL의 배양액을 0.45 μm 의 membrane filter로 여과한 후 80°C에서 24시간 건조한 후 무게차로 결정하였다. 그 결과, 균체 건조량 = 0.00000002 \times 세포농도(상관계수 = 0.99)의 관계를 얻었다.

배지 내 *Chlorella* sp.의 성장에 필요한 성분인 질소와 인의 농도 변화를 분석하기 위해 COLORIMETER(DT/870, Hach, U.S.A.)를 사용하여 분석하였다. 질소의 경우 NO_3^-/N (method 10020), 인의 경우 PO_4^{3-} (method 8114)을 측정하였으며 NO_3^-/N 와 PO_4^{3-} 의 측정 시 각각의 측정 농도는 0~

30.0 mg/L, 0~45.0 mg/L였고 오차 범위는 ± 0.5 mg/L, ± 0.1 mg/L였다.

주어진 광조건에서의 *Chlorella* sp. FC-21의 최대 비증식 속도(specific growth rate)는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\mu_{\max} = t^{-1} \cdot (\ln x/x_0) \quad (1)$$

여기서, μ_{\max} 는 최대 비증식속도(day^{-1}), x_0 및 x 는 초기($t=0$) 및 일정 배양 시간 후의 *Chlorella* sp. FC-21의 최대 농도(cells/mL), 그리고 t 는 배양 시간(day)을 나타낸다.

3. 실험결과 및 해석

LED를 이용한 *Chlorella* sp. FC-21에 대한 실험결과는 Table 2에 요약되어 있다. 일반적으로 광합성에 사용되는 빛의 양은 광량으로 표시되므로, 빛의 세기는 광량단위인 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 표시한다.

3.1. 파장에 따른 성장특성

각 실험조건에 따른 *Chlorella* sp. FC-21의 성장특성은 Fig. 2에 나타나 있으며, 최대 비증식속도는 식 (1)을 이용하여 산출하였다(Table 2).

Fig. 2에서와 같이 RED LEDs를 이용하여 배양할 때 가장 높은 비증식속도와 최대 세포농도를 얻을 수 있었다. 비증식속도의 경우 0.30 hr^{-1} (RED) > 0.28 hr^{-1} (WHITE) > 0.27 hr^{-1} (BLUE) > 0.26 hr^{-1} (Mixed)으로 감소하였으므로, RED LEDs가 *Chlorella* sp. FC-21의 배양에 가장 효과가 좋은 것으로 판명되었다.

3.2. 광량에 따른 비증식속도 변화

2차와 3차 실험에서는 효율이 낮은 BLUE와 RED, WHITE,

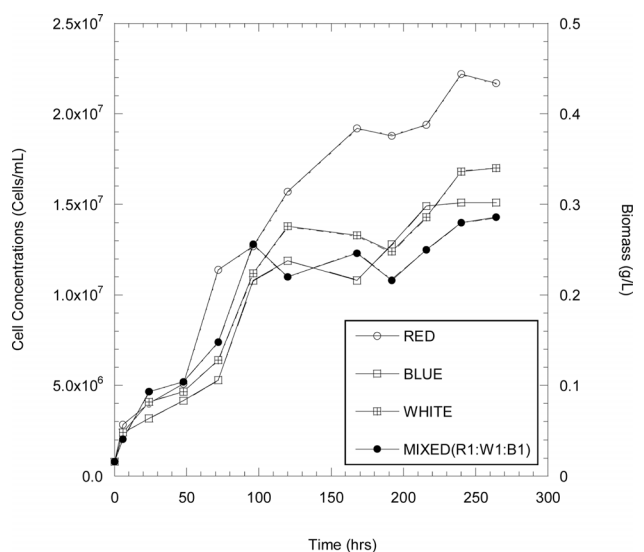


Fig. 2. Growth curves of *Chlorella* sp. FC-21 in a photo-reactor at different LEDs.

Table 2. The biomass production and the specific growth rate of *Chlorella* sp. FC-21 under different LEDs and test conditions

Test Set	LEDs	Light Intensity		Specific growth rate (day ⁻¹)	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration (cells/mL)	Biomass (g/L) ^b
		Lux	μmol/m ² /s				
1	RED	1700	50	0.30	8.0 × 10 ⁵	2.2 × 10 ⁷	0.44
	BLUE	1900	165	0.27	8.0 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁷	0.30
	WHITE	6900	102	0.28	8.0 × 10 ⁵	1.7 × 10 ⁷	0.34
	Mixed (R1:W1:B1)	4000	115	0.26	8.0 × 10 ⁵	1.4 × 10 ⁷	0.28
2	RED	2600	67	0.33	8.0 × 10 ⁵	7.9 × 10 ⁶	0.16
	WHITE	6200	90	0.27	8.0 × 10 ⁵	6.9 × 10 ⁶	0.14
	Mixed (R3:B1)	2300	70	0.22	8.0 × 10 ⁵	5.9 × 10 ⁶	0.12
3	RED	4400	116	0.42	8.5 × 10 ⁵	4.6 × 10 ⁶	0.09
	WHITE	9000	140	0.33	8.5 × 10 ⁵	3.3 × 10 ⁶	0.07
	Mixed (R3:B1)	3600	120	0.25	8.5 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁶	0.06
4	RED	4400	116	0.74	2.0 × 10 ⁴	3.5 × 10 ⁶	0.07
	RED	4400	116	0.53	1.0 × 10 ⁵	4.1 × 10 ⁶	0.08
	RED	4400	116	0.44	2.0 × 10 ⁵	4.3 × 10 ⁶	0.09
	RED+Air ^a	4400	116	1.09	2.0 × 10 ⁵	5.1 × 10 ⁷	1.02
5	Fluorescent Light	4500	56	0.17	8.5 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁶	0.06
	Fluorescent Light + Air ^a	4500	56	0.48	8.5 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁶	0.06

^a CO₂ concentration in the air is around 0.03%.

^b Biomass was measured when the cells grew up to the plateau stage in the culture.

BLUE로 구성된 MIXED 형태의 조명을 배제하고 RED, WHITE, 그리고 복합 LED2 (RED : BLUE = 3 : 1)로 구성된 MIXED 형태의 조명에 대해 *Chlorella* sp. FC-21의 배양특성에 대해 고찰하였다. 1차 실험과 달리 반응기 주변의 반사판을 추가로 설치함으로써 조도 및 광량을 증가시켜 광량 증가에 따른 배양특성에 대해 알아보았다. 실험에 적용된 조도 및 광량, 그리고 비증식속도와 최대 세포농도는 Table 2에 요약되어 있다. 세가지 광원 모두에 대해서 광량이 증가할수록 비증식속도도 같이 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 3).

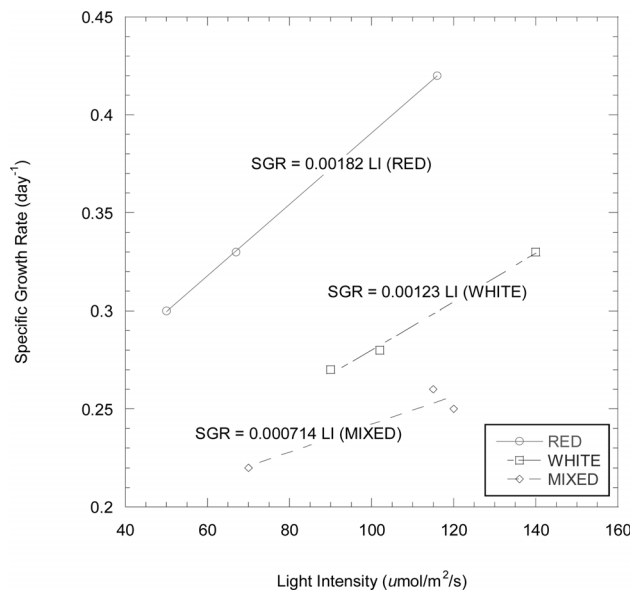


Fig. 3. Correlations between specific growth rate and light intensity at different LEDs.

RED LEDs의 경우 광량 증가에 따른 비증식속도의 증가가 가장 크게 나타났는데, 이는 *Chlorella* sp. FC-21의 배양에 있어 RED LEDs가 가장 효과가 크다는 것을 의미한다. Fig. 2에 표시된 식은 비증식속도와 광량간의 관계를 나타내는 실험식으로 RED LEDs의 경우 가장 큰 기울기 값을 보여주었다.

3.3. *Chlorella* sp. FC-21의 초기농도 및 공기공급과 비증식속도와의 관계

클로렐라의 초기농도가 비증식속도에 미치는 영향을 파악하기 위해 조도 4,400 Lux, 광량 116 μmol/m²/s 세기의 RED LEDs 조명하에 초기농도 2.0 × 10⁴, 1.0 × 10⁵, 2.0 × 10⁵인 반응기에 대해 비증식속도를 계산하였다. 클로렐라의 초기농도가 증가함에 따라 비증식속도는 반비례하여 감소하는 것을 알 수 있었다(Fig. 4). 이는 초기농도가 높을 경우 광합성에 필요한 광이 그림자 효과(Shading effects)에 의해 효과적으로 미세조류에 전달되지 않아 비증식속도가 감소하는 것을 의미한다. 초기농도가 2.0 × 10⁴ 일때의 비증식속도는 0.74 day⁻¹이었으나, 초기농도가 2.0 × 10⁵으로 열배 증가하였을 때 비증식속도는 0.44 day⁻¹로 감소하는 것을 알 수 있었다. 최대 셀농도의 경우 초기 셀농도가 증가함에 따라 약간 증가하였으나 큰 영향은 없는 것으로 판단된다.

미세조류의 셀농도가 증가함에 따라 외부에서 공급되는 광이 내부로 효과적으로 침투하지 못함에 따라 비증식속도가 감소하였는데,¹⁸⁻²¹⁾ 이를 해결하기 위해 공기를 내부에 불어 넣어 중심부에 있는 미세조류를 순환시켜 광공급을 원활히 하여 배양속도를 높일 수도 있다. 또한 공기중에 포함된 이산화탄소가 미세조류의 광합성에 이용되므로 광 및

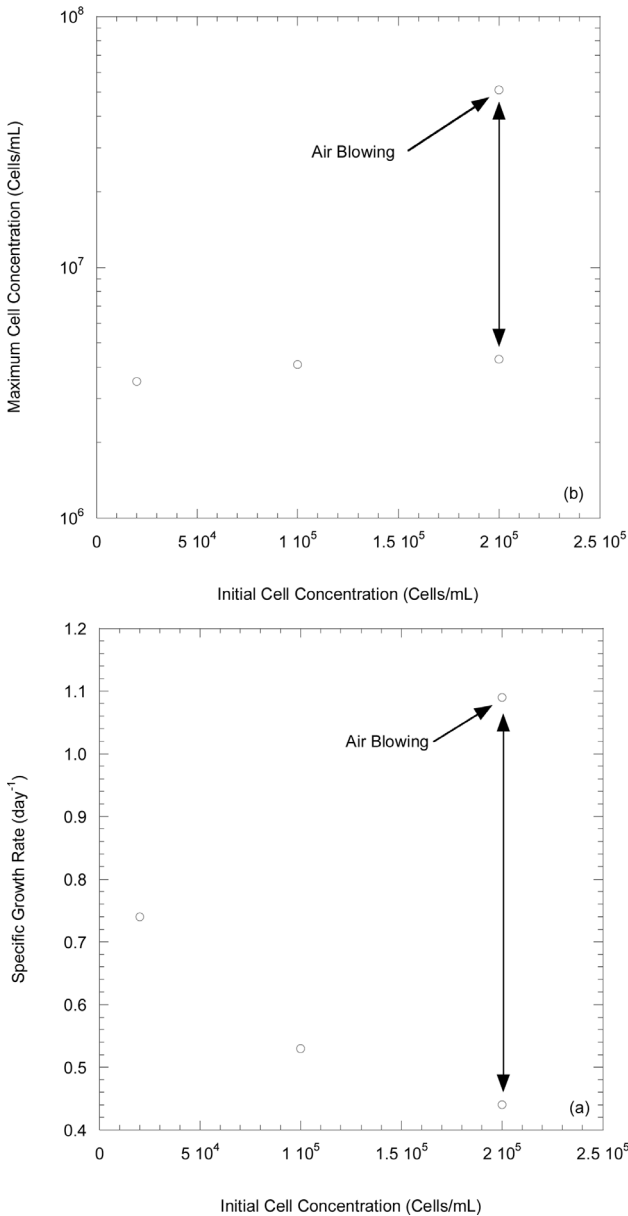


Fig. 4. Effects of initial cell concentrations on specific growth rates (a) and maximum cell concentrations (b).

에너지원 공급의 이중효과가 있다. 이에 본 연구에서는 0.35 vvm의 속도로 에어펌프를 이용하여 공기를 반응기 속에 주입하였다. 공기 주입 후 반응속도는 초기농도 2.0×10⁵일 때 비증식속도 0.44 day⁻¹에서 1.09 day⁻¹로 두배 이상 증가하는 것을 관찰하였다. 또한 최대농도도 4.3×10⁶에서 5.1×10⁷으로 열배 이상 증가하였다.

3.4. 공기공급 조건에서 *Chlorella* sp. FC-21의 반연속 배양(semi-continuous cultivation)

앞의 실험에서 적색 LEDs가 클로렐라 배양에 가장 효과가 있으며, 공기를 주입 시 혼합효과에 의해 더욱 배양속도가 증가하는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 위의 배양조건에서 클로렐라의 연속 배양 가능성을 확인하

기 위해 반연속배양을 시도하였다. 반연속배양은 기존 클로렐라 농도가 최대치에 도달하였을 때, 용액의 일부를 새로운 용액으로 희석하여 배양하는 방법이다. 새로운 용액으로의 희석정도를 나타내는 식은 다음과 같이 표시한다.

$$D = \frac{V_n}{V_f} \quad (2)$$

여기서, D는 희석률, V_f는 반응기에 있는 용액의 부피, 그리고 V_n은 치환된 용액을 의미한다.

본 연구에서는 배양액 부피의 50%를 새 용액으로 치환하였는데(치환율 50%), 이는 Lee et al.²²⁾의 연구에서 50%의 치환율에서 클로렐라의 배양효과가 가장 우수했기 때문

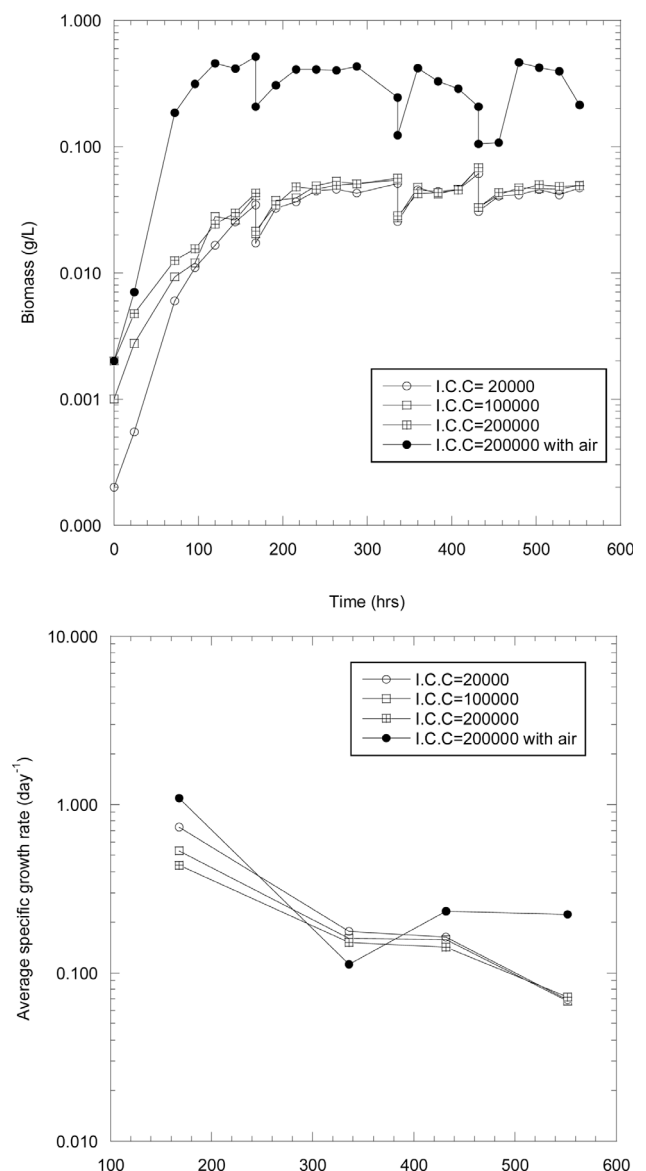


Fig. 5. Cell growth curves with dilution ratio of 0.5 in a semi-continuous reactor system under illumination of red LEDs at the light intensity of 116 μmol/m²/s (I.C.C = initial cell concentration, cells/mL).

이다. 배양 후 총 3회의 희석을 하였으며, 이에 따른 바이오매스 및 평균비증식속도의 변화가 Fig. 5에 나타나 있다.

클로렐라의 농도, 즉 바이오매스의 경우 1차 희석전까지 지속적으로 증가하였고, 희석후 농도가 급격히 떨어진 후 다시 증가를 하였다. 총 3차에 걸친 희석과정에서 동일한 현상이 관찰되었다. 평균비증식속도의 경우 1차 희석전까지는 최대농도를 기준으로 증식속도를 계산하였으나, 희석후의 증식속도는 희석후 농도를 기준으로 다음 희석까지 측정된 농도를 평균하여 평균값을 산정 한 후 증식속도를 계산하였다. 공기를 주입하지 않은 경우에는 초기농도에 상관없이 비증식속도가 희석한 횟수에 비례하여 계속 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이는 Lee et al.²²⁾의 연구결과와 일치하는데, 희석율을 일정하게 유지시키는 경우 배양액 중의 세포농도가 계속 증가하여 미세조류의 광합성을 저해하기 때문이다.

이에 반해 희석율을 계속 증가시킬 경우 평균증식속도가 희석횟수에 비례하여 증가하는 것으로 보고되었다.²²⁾ 본 연구의 결과도 기존 연구와 유사하나 공기를 주입한 경우에는 비록 희석전의 초기비증식속도(1.09 day^{-1})보다는 작지만 0.11 (1차희석), 0.23 (2차희석), 0.22 (3차희석) day^{-1} 로 일정하게 유지되는 것을 알 수가 있다. 이는 같은 초기농도 및 광조건에서 실험한 결과인 0.15 (1차희석), 0.14 (2차희석), 0.07 (3차희석) day^{-1} 보다 높은 평균비증식속도 값을 보여주었다. 따라서, 미세조류의 배양에 있어 공기의 공급은 광원과 더불어 중요한 제한인자인 것으로 판단된다.

3.5. 형광등을 이용한 *Chlorella* sp. FC-21 배양과의 비교

일반적으로 미세조류의 광배양에 많이 사용되는 형광등을 이용한 배양과 LEDs를 이용한 배양과의 비교를 위해 기존 형광등을 이용하여 클로렐라를 배양하였다. 배양조건은 RED LEDs를 이용한 실험조건과 같이 4,500 Lux로 조도를 조절하였다. 이때 사용된 전력은 63 W였으며 광량은 $56 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였다(Table 2). 이는 같은 조도에서 적색 LEDs의 광량이 더 크므로 광합성에 더 효율적이라는 것을 의미한다. 초기농도 8.5×10^5 일 때의 비증식속도는 0.17 day^{-1} 이었는데, 이는 같은 초기농도일 때의 RED LEDs의 배양속도 0.42 day^{-1} 보다 2.5배 작은 값이었다. 형광등 배양 시 공기를 주입하였을 때는 비증식속도가 0.48 day^{-1} 로 2.8배 이상 증가하였다. 이는 광원의 종류에 관계없이 공기 주입이 광합성에 중요한 역할을 한다는 것을 알려준다. RED LEDs 배양 시 공기를 주입하였을 때의 비증식속도(초기농도 2.0×10^5)는 1.09 day^{-1} 로 형광등에 비해 2배 이상 큰 값을 가지는 것을 알 수 있었다.

위의 실험결과를 통해 *Chlorella* sp. FC-21의 배양에 있어서 RED LEDs가 형광등에 비해 훨씬 경제적이고 효율적인 배양광원인 것을 알 수가 있다. 또한 공기 주입은 균등한 광공급 및 이산화탄소 공급을 할 수 있으므로 광원 선정과 함께 중요한 배양요소로 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는 *Chlorella* sp. FC-21을 효과적으로 배양하기 위한 광원을 선정하고자 다양한 파장의 LEDs와 혼합형식의 LEDs를 이용하여 배양을 하였으며 연구의 결과는 다음과 같다.

1) 적색, 백색, 청색, 혼합1(적색1: 백색1: 청색1), 혼합2(적색3: 청색1) 형태의 LEDs를 이용한 배양 실험 결과 적색 LEDs에서의 성장속도가 가장 빠른 것으로 확인이 되었다.

2) 각 파장 형태의 LEDs 조명 조건에서 광량의 증가는 클로렐라의 증식속도 증가로 이어졌으나, 적색의 경우 광량의 증가에 따른 증식속도의 증가가 가장 큰 것으로 밝혀졌다.

3) 적색 LEDs를 이용한 배양의 경우에서 초기 셀농도가 증가함에 따라 셀의 비증식속도는 반대로 감소하는 현상을 보였는데, 이는 각 셀의 그림자효과로 인해 광합성의 저해 현상이 발생한 것으로 판단된다. 비증식속도와는 다르게 최대 셀농도는 초기 셀농도와 비례하여 완만하게 증가하였다.

4) 적색 LEDs를 이용한 배양에서 공기를 주입한 경우에는 비증식속도가 1.09 day^{-1} 로 공기를 주입하지 않은 경우인 0.44 day^{-1} 에 비해 두배 이상 증가하는 것을 관찰하였다. 이는 공기 주입 시 반응기 내부의 셀의 이동을 촉진하여 반응기 외부에서 공급되는 광원이 내부의 셀에 공급이 되어 광합성이 촉진되었기 때문이며, 아울러 이산화탄소의 공급이 촉진되어 광합성에 필요한 탄소원의 공급이 원활하였기 때문이다.

5) 반연속배양의 경우 희석이 반복이 될수록 평균비증식속도가 지속적으로 감소하였는데, 이는 본 연구에서 사용한 희석율 50%의 경우에도 반응기 내부의 그림자효과에 의해 광합성이 원활하지 않았다는 것을 의미한다. 반연속배양에서 공기를 주입할 경우에는 초기 평균비증식속도가 1.09 day^{-1} 로 가장 높았으나, 희석이 반복될수록 0.11, 0.23, 0.22 day^{-1} 로 감소하였으나 공기를 주입하지 않은 경우의 평균비증식속도인 0.15, 0.14, 0.07 day^{-1} 보다는 높은 값을 보여주었다.

6) 적색 LEDs와 형광등을 광원으로 하여 클로렐라를 배양한 경우에는 적색 LEDs의 경우 초기 농도 $2.0 \times 10^5 \text{ cells}/\text{mL}$ 에서 0.42 day^{-1} 이였으나, 형광등의 경우에는 초기 농도 $8.5 \times 10^5 \text{ cells}/\text{mL}$ 에서 0.17 day^{-1} 로 두배 이상 감소하였다. 이는 적색 LEDs가 기존 광원인 형광등에 비해 배양에 훨씬 우수한 광원임을 알려준다.

사사

이 연구는 지식경제부 산업원천기술개발사업(과제번호: 10037416, 해양 LED 융합기술지원 기반구축 및 상용화 기술개발)으로 지원된 연구입니다.

참고문헌

- Hur, S. and Kim, H., "Chlorella cultivation for mass culture of rotifer, *Brachionus plicatilis*. I. Selection of suitable *Chlorella* species," *J. Aquaculture.*, **1**, 135~143(1988).
- Becker, E. W., "Algae mass cultivation - Production and utilization," *Proc. Biochem.*, **8**(9), 10~14(1981).
- Hartig, P., Grobbelaar, J. U., Soeder, C. J. and Groeneweg, J., "On the mass culture of microalgae : A real density as an important factor for achieving maximal productivity," *Biomass.*, **15**(4), 211~221(1988).
- Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae," *Biotechnol. Adv.*, **25**, 294~306(2007).
- Gouveia, L. and Oliveira, A. C., "Microalgae as a raw material for biofuels production," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **36**, 269~274(2009).
- Flaak, A. R. and Epifanio, C. E., "Dietary levels and growth of the oyster *Crassostrea virginica*," *Mar. Biol.*, **15**, 157~163(1978).
- Barnwal, B. K. and Sharma, M. P., "Prospects of biodiesel production from vegetables oils in India," *Renew. Sust. Energ.*, **9**, 363~378(2005).
- Figueroa, F. L., Aguilera, J. and Niell, F. X., "Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta)," *Eur. J. Phycol.*, **30**, 11~18(1995).
- Faust, M. A., Sager, J. C. and Meeson, B. W., "Response of *Prorocentrum mariae-lebouriae* (Dinophyceae) to light of different spectral qualities and irradiances: growth and pigmentation," *J. Phycol.*, **18**, 349~356(1982).
- Guillard, R. R. L. and Ryther, D., "Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran," *Can. J. Microbiol.*, **8**, 229~239(1962).
- Harimoto, T., Ishizaka, J. and Tsuda, R., "Latitude and vertical distributions of phytoplankton absorption spectra in the central North Pacific during spring 1994," *J. Oceanogr.*, **55**, 667~679(1999).
- Ichimi, K., Meksumpun, S. and Montani, S., "Effects of light intensity on the cyst germination of *Chattonella* sp. (Raphidophyceae)," *Plankton Biol. Ecol.*, **50**, 22~24(2003).
- Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S., "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review," *Renew. Sust. Energ.*, **14**, 217~232(2010).
- Chen, C. Y., Saratale, G. D., Lee, C. M., Chen, P. C. and Chang, J. S., "Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers," *Int. J. Hydrogen Energ.*, **33**, 6878~6885(2008).
- Wang, C. Y., Fu, C. C. and Liu, Y. C., "Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*," *Biochem. Eng. J.*, **37**, 21~25(2007).
- Katsuda, T., Lababpour, A., Shimahara, K. and Katoh, S., "Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs," *Enzyme Microb. Technol.*, **35**, 81~86(2004).
- Lee, C. G. and Palsson, B. O., "High-density algal photobioreactors using light-emitting diodes," *Biotechnol. Bioeng.*, **44**, 1161~1167(1994).
- Ral, L. C., Kumar, H. D., Mohn, F. H. and Soeder, C. J., "Services of algae to the environment," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **10**, 119~136(2000).
- Jin, E., Polle, J. E. W., Lee, H. K., Hyun, S. M. and Chang, M., "Xanthophylls in microalgae: From biosynthesis to biotechnological mass production and application," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **13**, 165~174(2003).
- Lee, J. S., Kim, D. K., Lee, J. P., Park, S. C., Koh, J. H. and Ohh, S. J., "CO₂ fixation by *Chlorella* KR-1 using flue gas and its utilization as a feedstuff for chicks," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 772~775(2001).
- Suh, I. S. and Lee, C. G., "Photobioreactor engineering: Design and performance," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **8**, 313~321(2003).
- Lee, J., Kwon, T., Baek, K. and Yang, J., "Biological Fixation of CO₂ by *Chlorella* sp. HA-1 in a Semi-Continuous and Series Reactor System," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **15**(3), 461~465(2005).