

연속저주파를 이용한 미세조류 파쇄

최준혁*, 김광호**, 박종락***, 정상화*.#

*조선대학교 기계공학과, **프로텍코리아(주), ***조선대학교 광기술공학과

Analysis of Cell Disruption in Microalgae Using Continuous Low Frequency Non-Focused Ultrasound

Jun-Hyuk Choi*, Gwang-Ho Kim**, Jong-Rak Park***, Sang-Hwa Jeong*.#

*Dept. of Mechanical Engineering, CHOSUN Univ.,

PROTECHKOREA Co. LTD., *Dept. of Photonic Engineering, CHOSUN Univ.

(Received 02 June 2021; received in revised form 15 June 2021; accepted 16 June 2021)

ABSTRACT

Recently, many studies have been conducted on substituting fossil fuels with bio-refineries in existing industrial systems using biomass. Among the various bio-refineries, microalgae have received wide attention because it uses inorganic compounds to produce useful substances, which are extracted by a cell disruption process. Although numerous cell disruption methods exist, cell disruption efficiency has been studied by ultrasonic treatment. Ultrasound is a high-frequency (20 kHz or higher) sound wave and causes cell disruption by cavitation when passing through a solvent. In this study, we used the microalgal species *Chlorella sp.*, which was cultured in a plate-type photobioreactor. The experiment was conducted using a continuous low-frequency processing device. The reduction of cells with time due to cell disruption was fitted using a logistic model, and optimum conditions for highly efficient cell disruption were determined by conducting experiments under multiple conditions.

Key Words : Cell Disruption(세포파쇄), Microalgae(미세조류), Ultrasound(초음파), Cell Membrane(세포막), Logistic Model(로지스틱 모델)

1. 서 론

최근 기존 산업체계에서 화석연료가 담당하고 있는 역할을 바이오매스로 대체하는 바이오 리파이너리(Bio-refinery)에 대한 많은 연구가 세계적으로 주목받고 있다. 특히, 미세조류를 이용한 바이오 에너지에 대한 연구가 활발히 이뤄지고 있다. 미세조류

는 광독립 영양 미생물로서 무기화합물을 이용해 수많은 유용물질을 생산한다. 이렇게 생산된 미세조류의 천연물질은 식품첨가물, 동물사료, 화장품 및 생명공학 등 다양한 분야에서 사용되고 있다^[1].

이 유용물질들을 사용하기 위해서는 세포막 파쇄 과정이 필수적이며, 파쇄과정은 크게 기계적방법과 비기계적방법으로 구분된다. 보편적으로, 비기계적 방법은 경제적이며 대량으로 처리를 할 수 있지만, 세포 파쇄과정에서 화학처리 공정으로 인해 환경오염을 야기할 수 있으며, 이를 방지하기 위한 후처

Corresponding Author : shjeong@chosun.ac.kr

Tel: +82-62-230-7178

리 공정에 많은 시간이 소요된다. 또한, 화학물질이 세포에 영향을 미치고, 처리 후에 정화과정이 필요하다. 기계적 방법은 세포의 단백질 구조 상태를 잘 유지할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 기존의 기계적 방법은 처리과정이 복잡하고, 장비가 고가이고 유지 보수 관리 비용이 많이 소요된다. 최근 많은 연구가 진행 중인 기계적 방법 중 하나인 초음파를 이용한 세포막 파쇄는 다른 기계적 파쇄 방법과 비교하여 경제적, 환경적 측면에서 뛰어난 장점을 가지고 있다. 초음파는 20kHz 이상의 높은 주파수의 음파로서, 초음파가 용매를 통과함에 따라 발생하는 공동현상(cavitation)으로 인하여 매우 높은 에너지가 발생하게 된다. 높은 에너지의 충격으로 인해 발생된 높은 압력은 세포벽 및 세포 내부구조를 쉽게 파열시킨다^[2]. 공동현상에 대한 모식도는 Fig.1에 나타내었으며, 초음파는 주파수에 따라 저주파, 고주파로 나뉘게 된다.

본 연구에서는 유동이 있는 균체에 연속적으로 저주파를 조사(irradiation)하며 미세조류의 파쇄 현상을 관측하였다. 연구에 사용된 미세조류는 평판형광생물반응기에서 각종 센서를 설치하여 배양 환경을 측정하고, 수집된 데이터를 이용해 미세조류의 최적 성장조건이 유지될 수 있도록 제어하였다.

먼저, 조도 조건에 변화를 주어 회분 배양된 *Chlorella sp.*의 최적 성장조건에 대하여 연구를 진행하였고, 해당 미세조류를 연속 배양하여 초음파를 이용한 세포막 파쇄 실험을 진행하였다. 또한, 초음파 처리장치의 최적 운전조건을 위해 여러 변수를 조정해가면서 실험을 진행하였다. 실험에서 변수는 초기 균체 농도, 초음파 출력 파워, 균체 유량, 작동 주기, pH 등 5가지를 선택하였으며, 실험 계획법을 이용하여 가장 좋은 파쇄 효율을 실험을 통해 연구를 진행하였다.

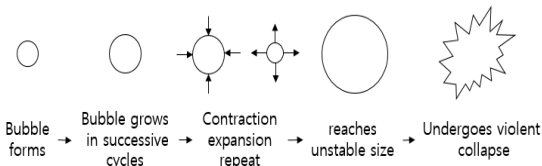


Fig. 1 Schematic diagram of cavitation

2. 미세조류 *Chlorella sp.* 배양

2.1 균주 및 배지액

균주는 평판형광생물반응기에서 배양된 *Chlorella sp.*를 사용하였고, 배양에 사용된 배지는 121℃에서 20분 동안 고압멸균기(Autoclave)에서 멸균하여 냉각시킨 TAP(Tris-Acetate-Phosphate) media를 사용하였다^[3].

2.2 회분식 배양

실험에 사용될 균주를 평판형광생물반응기에 회분배양 하였다. 회분배양의 특징은 목적물질(배양세포이거나 배양물질)을 생산하는데 필요한 기질 또는 배지 전체를 처음부터 배양기에 넣고 배양을 시작한다는 점이다. 처음 배양을 시작하면 배양시간에 따라 기질은 점차 감소되며, 접종 세포량은 증가되고, 세포 안이나 배양액에 생산물이 점차 축적된다^[4]. 균주의 회분배양은 성장에 영향을 미치는 조도 값에 변화를 주어 *Chlorella sp.*를 반복적으로 회분배양 하여 조도변화에 따른 성장곡선을 비교하여 균체의 최적 성장환경을 알아내었고, 이를 통해 실험에 사용될 균체를 배양하였다. Logistic, Gompertz, Baranyi 등 3가지 모델을 사용하여 성장곡선을 근사화하고 비성장률을 예측하였다. 배양 결과 조도 8,000 LUX에서 가장 빠른 성장을 나타내었으며, 최대광합밀도는 4.33이 측정되었다. 따라서, 8,000 LUX에서 균체를 연속 배양하여 세포파쇄 실험을 진행하였다.

3. 초음파 파쇄 시스템

3.1 연속저주파 처리장치

기존 미세조류 파쇄를 적용해 미세조류로부터 바이오 에너지를 추출하는 경우에는 경제적으로 부정적인 모습을 보였으며, 이를 보완하기 위해 기존의 방법 보다 경제적인 연속적인 저주파 시스템을 구축하였다. 연속적 저주파 처리방법은 수확된 미세조류를 연속해서 일정 속도로 세포벽을 파쇄하는 방법이며, 기존의 회분 초음파 처리장치보다 상

대적으로 대량 추출이 가능한 방법이다^[5]. 연속적인 초음파 장치의 구성은 지속적인 초음파 처리를 위해 장치 외부에 펌프와 유량계를 구성하여 균체의 일정한 순환 유량을 유지하였다. 초음파 처리 과정에서 발생하는 열에너지의 개입을 최소화하기 위해 얼음물을 일정한 속도로 초음파 처리 용기의 외부로 순환시켜 온도의 급격한 상승 현상을 억제하였다. 또한, 연속저주파 장치에서는 기존 회분 저주파 처리에서보다 처리용량을 증가시켰고, 이에 맞춰 처리장치에 증폭기를 더하여 출력 파워를 증가시켜 파쇄 효율을 증가시켰다. Table 1에 실험에 사용된 연속저주파 장치의 매질에서 출력 파워, 진동 에너지와 출력밀도를 나타내었고, Fig. 2에 개략적인 연속저주파 파쇄장치 시스템을 나타내었다.

3.2 연속저주파 파쇄실험 조건

미세조류는 수많은 종이 존재하며, 그 종에 따라서 각각의 적정 파쇄 조건이 다르므로, 본 연구에서는 파쇄 효율에 영향을 미칠 수 있는 변수 5가지를 선별하여 실험 조건을 결정하였다. 5가지 실험 조건은 실험에 사용된 *Chlorella sp.*의 초기 균체 농도(Microalgae concentration), 처리장치의 출력 파워, 작동 주기(Duty cycle), 균체 초기 pH 및 균체 유동 유량(Flow rate) 등이며, 각 변수마다 최대 4단계로 나누어 반복실험을 통해 연구하였다. 연속저주파 처리장치 내부의 최대 수용가능 용량은 0.5L이며, 원활한 균체 유동을 위해 장치 외부의 미세조류 0.8L를 준비하여 실험을 진행하였다. 변수들의 실험 단계는 Table 2에 나타내었다.

3.3 세포 파쇄 효율 계산식

평판형광생물배양기에서 배양한 *Chlorella sp.*를 연속저주파 초음파 장치를 이용하여 파쇄 하였고, 파쇄 효율은 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다^[6].

$$\eta = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100 (\%) \quad (1)$$

여기서, C_0 은 초기 세포 농도이며, C_t 는 t 분 동안 초음파 처리된 후의 세포 농도이다.

Table 1 Output variable of continuous low frequency sonication device

Unit	Amplitude %	probe output power watt			Vibration distance μm	Energy/Power watt	Power Density watt/cm ²
		Air	Water	Chlorella			
level(1)	40	4	121	118	45.6	114	23.22
level(2)	45	8	139	139	51.3	134	27.29
level(3)	50	9	158	158	57.0	151	30.75
level(4)	55	10	178	178	62.7	169	34.42
level(5)	60	12	196	193	68.4	183	37.27

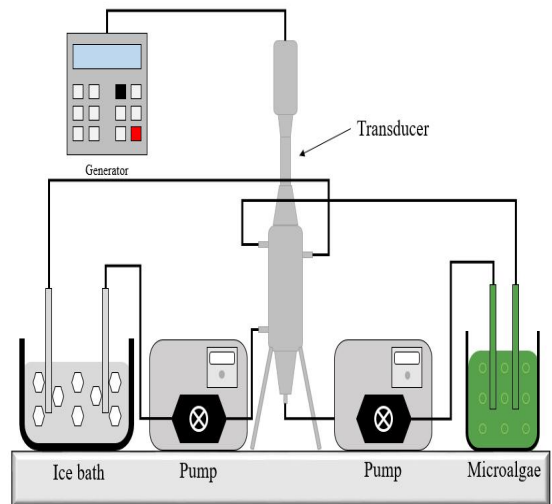


Fig. 2 Schematic diagram of continuous low frequency non-focused ultrasound system

Table 2 Level of parameters in continuous low frequency non-focused ultrasound process

Parameter	Microalgae concentration	Power	Flow rate	pH	Duty cycle
Unit	OD680	Watt	ml/min	-logCH+	sonication : circulation
Factor	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
level(1)	1.54	108	415	5.26	5 : 1
level(2)	2.80	185	700	7.85	10 : 1
level(3)	3.16	207	1010	10.12	20 : 1
level(4)	4.13	225	1290	-	-

4. 연속저주파 초음파 파쇄 실험 결과

4.1 초기 균체 농도

초음파 실험에서 초기 균체 농도가 파쇄 효율에 미치는 영향을 알아보기 위해서 연속저주파 처리를 통해 미세조류 *Chlorella sp.*의 세포 파쇄 실험을 진행하였다. 초기조건은 출력 파워 225 watt, 순환 유량 415 ml/min, pH는 배양배지(7.0~7.4)로 설정 하였다.

실험을 통해 측정된 파쇄 효율 변화를 Fig. 3에 나타내었으며, 첫 번째는 가장 낮은 초기 균체 농도 조건인 광학밀도 1.54에서 연구를 진행하였으며, 미세조류 성장구간 초기 단계에 해당한다. 해당 구간에서 세포의 성장이 불완전하여 가장 낮은 세포 파쇄 효율이 나타났다. 광학밀도 4.13의 경우, 가장 높은 초기 균체 농도로서, 세포막이 잘 성장 된 상태이며, 세포 간 인력이 강해 낮은 세포파쇄 효율이 나타난다. 광학밀도 2.80과 3.16의 경우 세포의 성장이 급속도로 증가하는 단계이며, 모두 초기 세포 파쇄 효율이 높다. 3.16의 경우 좋은 세포 파쇄 효율을 지속적으로 보여주며, 100분의 파쇄실험 동안 85% 이상의 효율을 보인다. 2.80의 경우에는 약 60분 후 약 85%에 가까운 효율을 나타냈으며, 이후로도 계속하여 파쇄 효율이 증가하였고, 최종 결과에서도 가장 높은 파쇄 효율을 나타내었다.

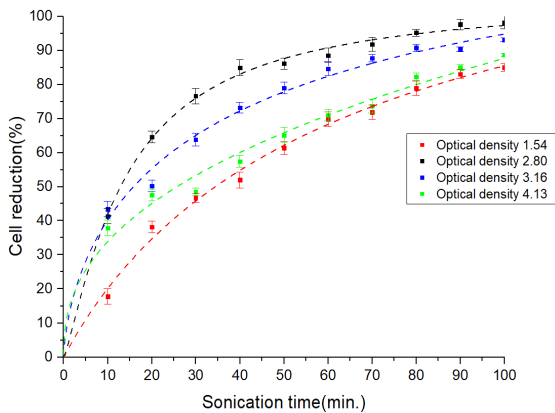


Fig. 3 Cell reduction variation according to initial OD value in continuous LFNFU treatment

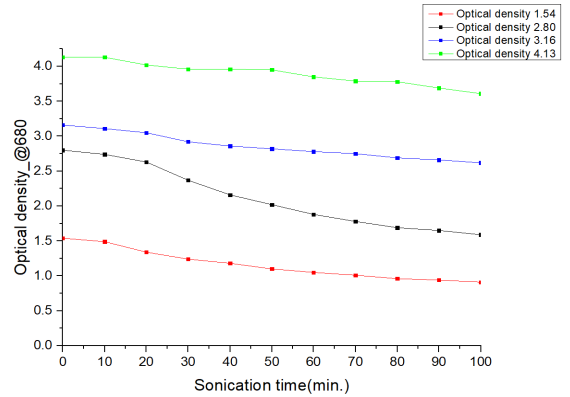


Fig. 4 Optical density variation during sonication for initial OD experiment in continuous LFNFU

시간변화에 따른 광학밀도의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 나타난 것처럼 y축은 680nm파장에서의 광학밀도이며, 광학밀도의 측정은 식 (2)와 같이 나타낼 수 있다.

$$OD_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{l} = -\frac{1}{l} \log_{10} T = \frac{1}{l} \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (2)$$

여기서 I 는 투과광의 강도, I_0 는 입사광의 강도이며, λ 는 빛의 파장이고, l 는 측정 셀의 길이이다. 이를 바탕으로 설계된 분광광도계에서 측정된 시간변화에 따른 광학밀도 값은 모든 실험에서 초음파처리 시간이 경과 할수록 감소하며, 2.80의 경우 가장 많은 감소를 보인다.

4.2 출력 파워

연속저주파 처리장치의 출력 파워에 따른 세포파쇄 효율을 알아보기 위해 실험을 진행하였다. 선행 실험에서 효율이 가장 좋은 광학밀도 2.80 근방에서 실험하였으며, 장치의 출력 파워는 225 watt를 초과할 경우 과부하가 발생함을 고려하여 Table 2의 4단계 출력 파워 값에 따른 실험을 진행하였다.

출력 파워의 변화에 따른 세포파쇄 효율은 Fig. 5에 나타내었다. 가장 낮은 108 watt에서는 최종 세포파쇄 효율이 50%미만을 나타냈다. 185 watt에서는 108 watt보다 높지만 최종 파쇄 효율이 상대적으로 낮

은 60%미만을 나타냈다. 205 watt에서는 약 40분에서 50%이상의 세포 파쇄 효율을 보였으며, 실험종료까지 약 80%의 효율을 보였다. 가장 높은 단계인 225 watt에서는 가장 높은 파쇄 효율을 보였으며, 약 10분 정도부터 40%이상의 세포파쇄 효율을 보였고, 최종적으로 90%이상의 높은 파쇄 효율을 보였다. 실험결과 출력 파워의 변화에 따라 극명한 효율차이를 나타냈으며, 장치의 출력 파워가 높을수록 세포파쇄 효율이 급격하게 증가했다. 또한, 90% 이상의 고효율을 얻기 위해서는 225 watt의 출력을 사용해야 한다.

초음파 처리 시간에 따른 광학밀도의 변화는 Fig. 6에 나타내었으며, 출력 파워가 가장 높은 225 watt에서 변화가 가장 크게 나타났다.

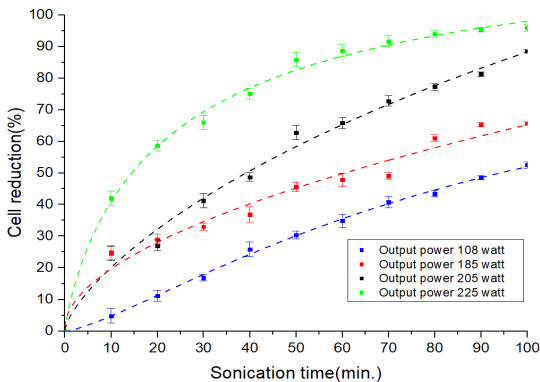


Fig. 5 Cell reduction variation according to output power in continuous LFNFU

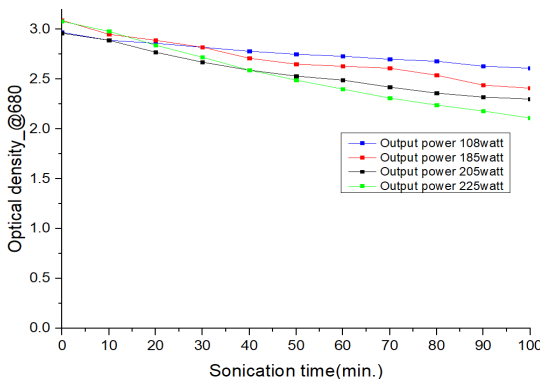


Fig. 6 Optical density variation during sonication for output power in continuous LFNFU

4.3 순환 유량

기존의 고정적인 초음파처리 방식과는 다르게, 연속저주파 초음파장치는 외부의 펌프를 이용하여 균체를 순환시킨다. 장치 내부에서 균체가 순환하면서 초음파에 접촉되기 때문에, 장치 외부의 펌프의 속도를 조정하여 순환 유량에 따른 실험을 진행하였다. 일정한 유량제어를 위해 유량계를 사용해 펌프의 rpm변화에 따른 유량을 측정하였다. 또한, 선행실험의 초기균체광학밀도 2.80, 출력 파워 225 watt를 실험 초기 조건으로 설정하고, 실험을 진행하였다. 유량에 따른 세포 파쇄 효율은 Fig. 7에 나타내었다.

실험 결과 모든 균체 순환 유량에서 약 20분 이후에 40%이상의 효율이 나타나고, 최종적으로 모든 조건에서 90% 전후로 매우 양호한 효율을 보였다. 유량이 가장 적은 415 ml/min에서는 실험 시작 후 20분 이후로 다른 조건들과 차이를 보이며, 실험 시작 후 70분 전후로 90%의 파쇄 효율이 나타났다. 최종적으로 가장 높은 세포 파쇄 효율을 보였다. 가장 낮은 세포 파쇄 효율은 유량이 가장 많은 1290 ml/min에서 나타났으며, 유량이 적은 순서대로 파쇄 효율이 높게 나타났다.

초음파 처리 시간에 따른 광학밀도 변화량은 Fig. 8에서 나타난 것처럼, 순환 유량이 가장 적은 415 ml/min에서 가장 많이 감소하는 모습을 보이며, 유량이 가장 많은 1290 ml/min에서 가장 적은 감소를 보이는 것을 살펴볼 수 있다.

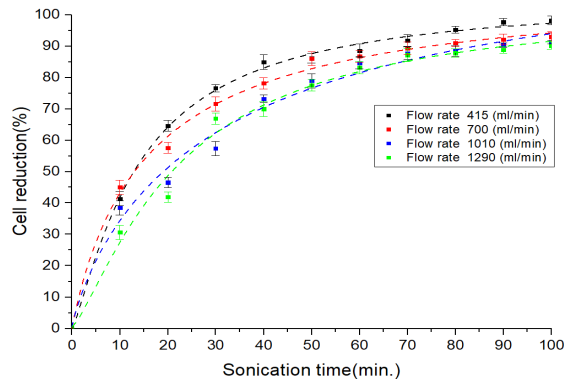


Fig. 7 Cell reduction variation according to flow rate in continuous LFNFU

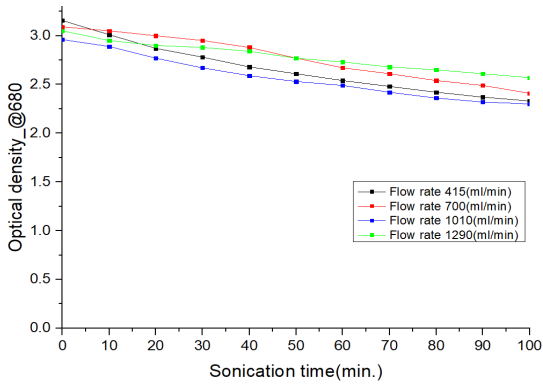


Fig. 8 Optical density variation during sonication for flow rate in continuous LFNU

4.4 작동 주기

이전 순환 유량실험에서, 유량이 적을수록 초음파와 균체의 접촉시간이 증가하여 단위시간당 균체 처리량이 증가했고, 이에 따라서 세포 파쇄 효율도 증가함을 볼 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로, 외부의 펌프 작동 주기를 조정하여 균체가 초음파와 접촉하는 시간에 변화를 주어 작동 주기가 파쇄 효율에 미치는 영향을 연구하였다. 앞선 실험에서 얻은 초기 균체 농도 2.80, 출력 파워 225 watt, 순환 유량 415 ml/min을 실험 초기조건으로 채택하였다. 해당 실험에서 조정한 작동 주기 조건은 총 3 단계로서, 5:1(5분 초음파 처리 1분 순환), 10:1, 20:1로 나뉘며, 모든 실험의 초음파 처리 시간은 100분으로 동일했다.

작동 주기 변화에 따른 세포 파쇄 효율을 Fig. 9에 나타냈다. 가장 좋은 효율은 10:1주기에서 나타났으며, 실험 시작 20분 만에 50%이상의 파쇄 효율이 나타났으며, 최종 파쇄 효율도 가장 높게 나타났다. 가장 좋은 효율이 나타난 10:1주기에서 출력 파워를 다르게 하여 실험한 결과 출력 파워의 영향을 받아 225 watt에서 더 좋은 효율을 보였다.

처리 시간에 따른 광학밀도 변화는 Fig. 10에 나타내었고, 세포파쇄 효율이 높은 10:1주기 출력 파워 225 watt에서 큰 폭으로 감소함을 볼 수 있다. 세포파쇄 효율이 가장 낮은 20:1주기에서도 광학밀도가 큰 폭으로 감소하는 결과가 나타났다.

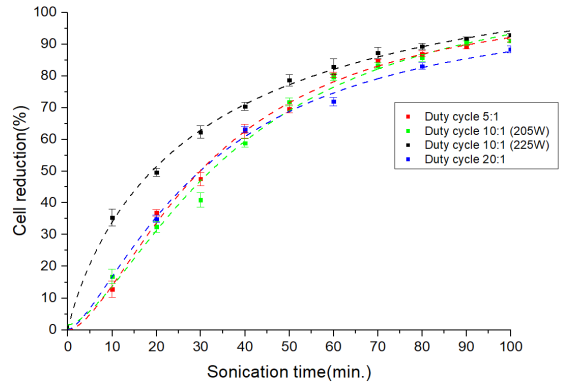


Fig. 9 Cell reduction variation according to duty cycle in continuous LFNU

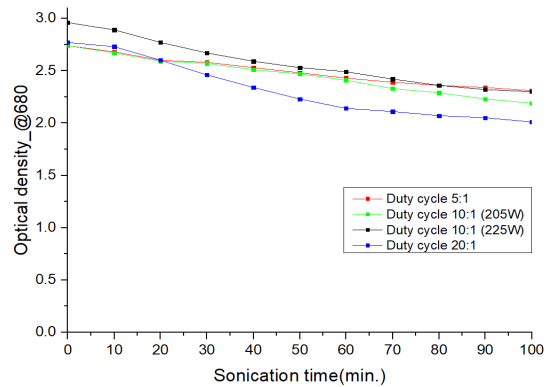


Fig. 10 Optical density variation during sonication for duty cycle in continuous LFNU

추가로 작동 주기와 순환 유량을 병행한 초음파 처리 실험과 순환 유량만을 가지고 실험을 진행하여 비교 하였다. 실험 초기조건은 선행 실험들의 최적 파쇄효율 조건과 10:1주기로 실험을 진행하였고, 세포파쇄 효율을 Fig. 11에 나타내었고, 초음파 처리 시간에 따른 광학밀도 변화는 Fig. 12에 나타내었다.

실험 결과 균체의 순환 유량과 작동 주기를 병행한 실험이 더 높은 파쇄 효율을 나타냈으며, 10:1주기와 순환 유량 415 ml/min을 병행한 실험이 초기부터 실험 종료까지 가장 높은 세포 파쇄 효율을 보였다. 비교해 본 결과 초음파 처리장치에 작동 주기를 설정하여 조사 할 때, 더 좋은 세포파쇄 효율을 얻을 수 있었다.

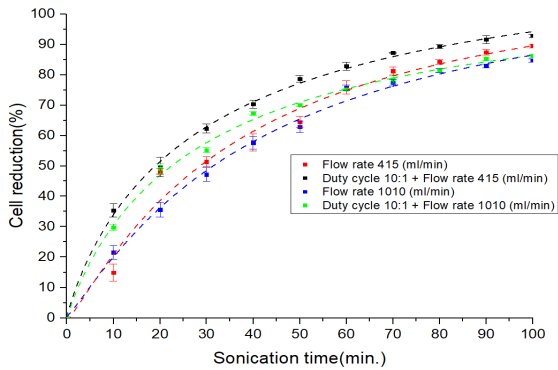


Fig. 11 Cell reduction variation according to comparison of parallel and single experiment in continuous LFNFU

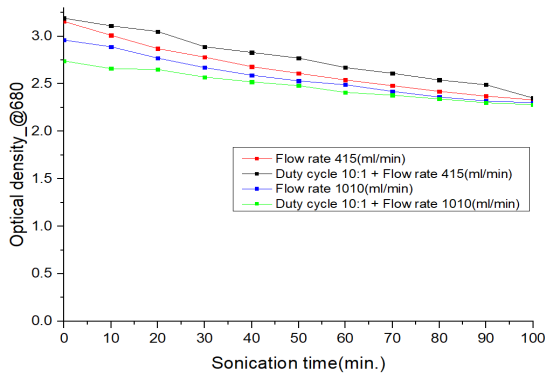


Fig. 12 Optical density variation during sonication for comparison of parallel and single experiment in continuous LFNFU

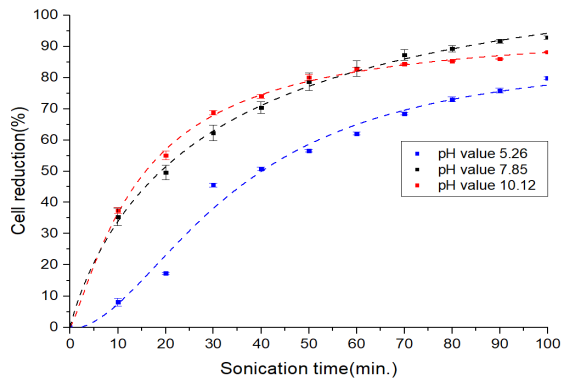


Fig. 13 Cell reduction variation according to pH in continuous LFNFU

초음파처리 시간에 따른 광학밀도 변화는 10:1, 415 ml/min에서 가장 큰 폭으로 감소함을 볼 수 있으며, 파쇄 효율과는 다르게 415 ml/min에서 두 번째로 크게 감소하였다.

4.5 초기 pH

모든 실험에서 사용한 *Chlorella sp.*는 pH 7.0~7.4의 중성 환경에서 배양되었다. 연속저주파 실험에서 pH가 세포파쇄 효율에 미치는 영향을 연구하기 위하여 균체에 HCl과 NaOH를 첨가하여 pH를 조정하여 실험을 진행하였다. 선행 실험들의 최적 세포파쇄 효율인 초기 균체 광학밀도 2.80, 출력 파워 225 watt, 순환 유량 415 ml/min을 초기 조건으로 설정하고 실험을 진행하였으며, 실험 단계는 pH 5.26, 7.85, 10.12 등 총 세 가지로 나누어 실험을 통해 연구를 수행 하였다. 각 조건에서의 세포 파쇄 효율 실험결과는 Fig. 13과 같다.

실험 결과 pH 10.12의 경우 염기처리로 인해 유연해진 세포막의 영향으로^[7] 초기에 세포파쇄 효율이 가장 높음을 볼 수 있지만, 실험시작 30분 이후 점차 파쇄 효율이 감소하는 모습을 볼 수 있다. 산성인 pH 5.26에서는 산 처리로 인해 단단해진 세포막의 영향으로 실험 초기부터 낮은 세포파쇄 효율을 보이며, 지속적으로 낮은 파쇄 효율이 나타난다. 최종적으로 75% 정도의 세포 파쇄 효율로 3조건 중 가장 낮은 효율을 살펴볼 수 있다. 다른 실험과 가장 유사한 조건인 pH 7.85에서는 초기 세포파쇄 효율이 염기처리를 한 pH 10.12보다 더 낮은 세포파쇄 효율이 나타나지만, 60분 이후부터 가장 높은 세포파쇄 효율이 나타나, 최종적으로 세포파쇄 효율이 가장 높게 나타난다.

시간에 따른 광학밀도의 변화는 Fig. 14에 나타났다. 중성과 염기 처리를 한 경우, 선행 실험들에서 나타난 것처럼 세포 파쇄 효율이 높을수록 높은 감소를 보였다. 산 처리의 경우도 마찬가지로, 낮은 파쇄효율에 따라 낮은 광학밀도 감소를 보인다.

추가적으로 초음파 처리 과정에서 pH의 변화량을 Fig. 15에 나타냈으며, 살펴볼 수 있는 바와 같이, 산, 염기 처리를 진행한 실험들의 pH는 모두 중성 값에 조금씩 근접하며, 중성의 경우 미세한 변화는 있지만 큰 pH 변화는 나타나지 않는다.

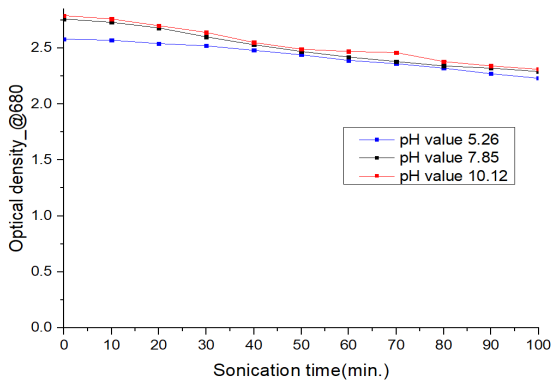


Fig. 14 Optical density variation during sonication for pH in continuous LFNFU

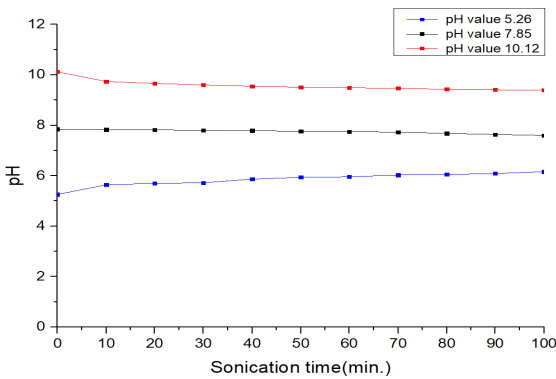


Fig. 15 pH change according to sonication time

균체의 초음파처리 과정에서 세포내부에 있는 중성 요소들이 방출되는 것으로 판단이 되며, pH의 조정이 실험에 영향을 미치는 모습을 볼 수 있다.

5. 결론

평판형광생물반응기에서 TAP media를 사용하여 배양된 미세조류 *Chlorella sp.*에 대해 조도 값에 변화를 주어 회분배양을 진행하였다. 세포 내 광산란도가 가장 높은 680 nm파장을 이용하여 최적성장 조건을 계속하였다. 계속된 최적성장조건을 통해서 균체를 배양하였고, 배양된 균체로 연속저주파 실험을 통해 연구를 진행하였다. 연속저주파는 초기 균체 농도, 초음파 출력 파워, 균체 유량, 작동 주

기와 균체의 초기 pH등 5가지 변수를 조정하면서 최적 세포 파쇄 효율 조건을 결정하였다. 본 논문의 결론을 다음과 같이 정리하였다.

1. 약 17일 동안 평판형광생물반응기에서 광주기 24:0으로 회분 배양한 *Chlorella sp.*를 총 4가지 조건의 조도 값에서 광학밀도를 측정하여 비교하였고, 그 결과 8,000 LUX에서 최적의 성장률을 보였으며 균체의 최대 광학밀도 값은 4.33이 측정되었다.
2. 최적성장조건으로 배양된 균체 *Chlorella sp.*를 사용하여 초기 균체 농도에 대한 연속저주파 실험을 하였다. 실험 결과 4가지 실험 조건 중에서 성장이 급속도로 증가하는 광학밀도 2.80과 3.16에서 파쇄 효율이 높게 나타났다. 최종 세포 파쇄 효율은 초기 광학밀도 2.80에서 가장 높게 나타났다.
3. 연속저주파 장치의 출력 파워를 변수로 설정하여 실험을 한 결과, 출력 파워의 변화에 따라 세포 파쇄 효율이 극명한 차이를 보였다. 출력 파워가 증가 할수록 세포 파쇄 효율이 급격히 증가했으며, 가장 낮은 108 watt와 가장 높은 225 watt의 최종 세포 파쇄 효율이 약 40%정도의 큰 차이를 보였다. 출력 파워가 세포 파쇄 효율에 미치는 영향이 큰 것을 알 수 있었다.
4. 연속 초음파 장치의 외부 펌프 속도를 조정하여 균체 유량이 세포 파쇄 효율에 미치는 영향을 실험을 진행한 결과, 모든 실험 조건에서 약 70분 이후 80% 이상의 파쇄 효율이 나타났으며, 유량이 가장 적은 415 ml/min에서 최종 세포 파쇄 효율이 가장 높게 나타났다. 균체 유량이 적을수록 유동하는 세포와 초음파의 접촉이 시간이 증가하여 세포 파쇄 효율이 높게 나타난 것으로 판단된다.
5. 연속 초음파 장치의 외부 펌프 작동 주기를 조정하여 세포 파쇄 효율에 미치는 영향에 대해 실험을 한 결과, 10:1주기의 실험이 가장 높은 세포 파쇄 효율이 나타났으며, 20:1주기보다 5:1주기에서 세포 최종 파쇄 효율이 더 높게 나타났다.

6. 순환 유량과 작동 주기를 병행한 실험과 순환 유량만을 가지고 실험하여 비교 한 실험 결과, 순환 유량과 작동 주기를 병행한 실험이 더 높은 파쇄 효율을 나타냈다. 가장 높은 최종 세포 파쇄 효율은 10:1 주기, 순환 유량 415 ml/min에서 볼 수 있었다. 펌프의 작동 주기를 조정 한 실험에서 알 수 있듯이 단순한 연속 순환 방법 보다는 초음파 처리장치에 적당한 작동 주기를 설정하여 순환시킬 때, 더 높은 세포 파쇄 효율을 얻을 수 있었다.
7. 연속저주파 처리 실험에서 균체 초기 pH가 미치는 영향을 알아보기 위해 pH를 조정하여 실험을 진행 한 결과, 균체에 산 처리를 할 경우보다 염기 처리를 할 경우 세포막이 유연해져 초기 세포 파쇄 효율이 증가하였다. 하지만, 최종 세포 파쇄 효율은 중성 조건에서 가장 높게 측정되었다. 실험을 진행 할수록 모든 실험의 pH가 중성에 접근하는 것을 확인 할 수 있었고, 세포 내부에 중성 요소가 방출되는 것으로 판단된다.

후 기

“이 논문은 2020년 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음”

REFERENCES

1. Rahimi, M., Mohamadian, E., Dadari, S., Arbab, M. M., Karimi, N., “Application of high frequency ultrasound in different irradiation systems for photosynthesis pigment extraction from Chlorella microalgae”, Korean Journal of Chemical Engineering, Vol. 34, No. 4, pp. 1100-1108, 2017.
2. Gunerken, E., D'Hondt, E., Eppink, M. H. M., Garcia-Gonzalez, L., Elst, K. and Wijffels, R. H. “Cell disruption for microalgae biorefineries”, Biotechnology Advances, Vol. 33, No. 2, pp. 243-260, 2015.
3. Bae, M. G., Choi, J. H., Park, J. R., Jeong, S. H., “Cell Disruption of Microalgae by Low Frequency Non-Focused Ultrasound”, Journals of Korean Society of Manufacturing Technology Engineers, Vol. 19, No. 2, pp.105-112, 2020.
4. Kim, J. H., Yoon, C. M. and Jeong, S. H., “On-off Control for Continuous Culture of Microalgae in Flat Panel Photobioreactor”, Journals of Korean Society of Manufacturing Technology Engineers, Vol. 25, No. 3, pp. 237-243, 2016.
5. Bae, M. G., "A Study on the cell Disruption of Microalgae using Ultrasound sonication," A Thesis for a Master's degree, Chosun University, Republic of Korea, 2020.
6. Tan, X., Zhang, D., Parajuli, K., Upadhyay, S., Jiang, Y. and Duan, Z., “Comparison of Four Quantitative Techniques for Monitoring Microalgae Disruption by Low-Frequency Ultrasound and Acoustic Energy Efficiency,” Environmental Science & Technology, Vol. 52, No. 5, pp. 3295-3303, 2018.
7. In, M. J., Kim, Y. M., “Effect of Cell Lytic Enzyme Treatment on the Extraction Yield in Production of Microalgae Extract,” Foodservice Management Society of Korea, Vol. 5, No. 1, pp. 83-93, 2009.