

The Effects of Acetate and CO₂ Supplements for Cell Growth of *Haematococcus pluvialis* in Bubble Column Photobioreactors

서문원, 이철균

인하대학교 생물공학과

전화 (032) 865-7518, FAX (032) 872-4046

Abstract

Haematococcus pluvialis was cultured autotrophically and mixotrophically for astaxanthin production in bubble column photobioreactors with CO₂ and/or acetate supplements. Four different schemes were tested using 5% CO₂ balanced with 95% N₂ at the aeration rate of 0.1 vvm and supplementation of acetate (1 g/L) to the basal medium, MBBM. Average specific growth rates based on cell total volume of each case were 0.138 day⁻¹ in control (without CO₂ and acetate supplements), 0.125 day⁻¹ with only acetate supplementation, 0.315 day⁻¹ with only CO₂ supplement, 0.304 day⁻¹ with both CO₂ and acetate. The growth rate under CO₂ supply was much higher than that without CO₂ supply. DCO and DO seemed to be a possible limitation factor. Another interesting observation was the growth rate under CO₂ supplement (without acetate) was higher than that under both CO₂ and acetate supply. This result is the opposite of the previously reported works. From the result, the existence of acetate may suppress the dark reaction of CO₂ fixation or photosynthesis. Conclusively, the growth of *H. pluvialis* under photoautotrophic condition found to be higher than that under mixotrophic condition.

서론

*H. pluvialis*에 의한 astaxanthin의 생산은 현재 상업적인 생산방법으로 개방형 연못에서의 배양이 이용되고 있으나 원생동물이나 다른 미세조류에 의한 오염으로 인해서 그 효율이 크게 떨어지고, 넓은 조업면적이 필요함에 따라 그 관리비용이 증가하는 단점을 갖고 있다. 그에 대하여 경제성 있는 실내배양을 위한 많은 연구가 세계 각 국에서 진행 중이며 다양한 광생물반응기와 그 성장조건들이 제안되었다.¹ 본 실험에서는 세포의 성장에 적합하다고 판단되는 컬럼형 반응기를 이용하여 배지 내에 acetate와 CO₂를 공급함으로써 혼합영양상태(mixotroph)와 독립영양상태(autotroph)를 세포의 성장에 대하여 비교하였다.

재료 및 방법

본 실험의 *H. pluvialis*는 UTEX 16으로서 University of Texas, Austin으로부터 분양 받은 것이다. 기본 배지는 MBBM² (Modified Bold's Basal Medium)이고 배양기는 안지름이 3.6 cm인 컬럼형 반응기를 이용하였다. 배양온도는 25°C, 배양부피는 450 mL, 공급기체의 부피속도는 1 vvm (45 mL/min), 광도는 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 하였다.

Sets	Acetate	CO ₂
Autotroph-CO ₂	X	O
Mixotroph-CO ₂	O	O
Autotroph-Air	X	X
Mixotroph-Air	O	X

실험의 구성은 다음의 Table 1과 같다. 이 때, acetate의 농도는 1 g/L이고 CO₂는 5%를 95%의 N₂와 함께 공급하였다. 초기 세포 농도는 0.01 v/v %로 하였다.

Table 1. Experimental settings

세포의 농도는 Coulter Counter (model Z2, Coulter Electronics, Inc., Miami, FL, U. S. A)를 이용하여 측정 후 Accucomp(R) software로 분석하였고 pH는 pH meter (model 720P, Istek, Korea)를 이용하였다.

결과 및 고찰

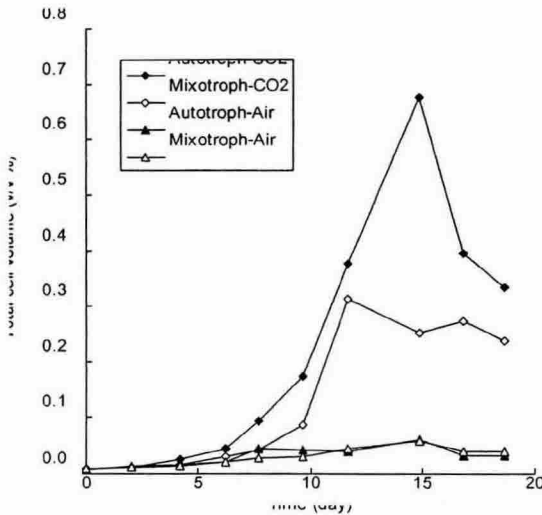


Figure 1. Growth profiles of *H. pluvialis*

세포의 성장이 acetate에 의해 저해를 받는 것으로 보여진다. 이는 항상 활성화되어 있는 암반응의 켈빈회로가 지방산의 산화 보다 더욱 효율적이기 때문에, acetate가

현재까지 연구된 바에 의하면 acetate를 탄소원으로 하는 혼합영양상태가 독립영양상태인 경우보다 세포의 성장이 더 빨랐던 것으로 보고되어 왔다.³ 그러나 생화학적으로 세포가 acetate를 이용하기 위해서는 지방산의 산화기작, 즉 지방산을 acyl-CoA로 바꾸고 여러 효소들을 동원하여 미토콘드리아의 막을 통과하고 β -oxidation을 거쳐 acetyl-CoA로 활성화하여 이용하여야만 한다. 본 실험에서는 Figure 1에서와 같이 5%의 CO₂를 공급한 경우, 오히려

존재할 때 이러한 지방산 산화기작과 광합성의 암반응이 동시에 작용함으로써 오히려 세포의 에너지 효율이 더 떨어짐을 의미한다고 볼 수 있다.

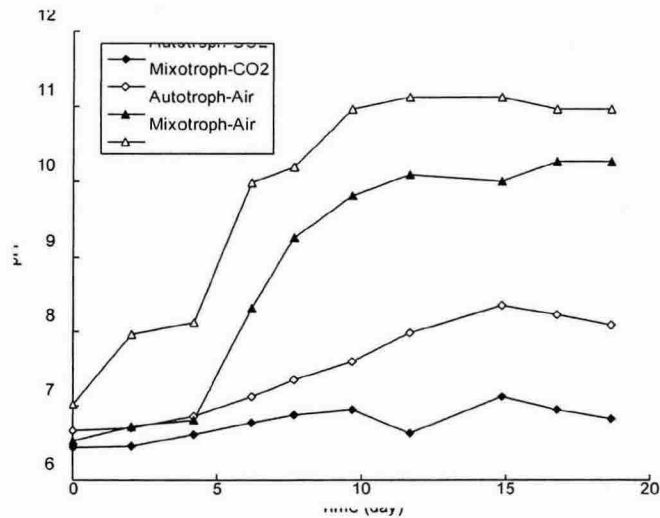


Figure 2. pH profiles of *H. pluvialis*

과량의 N_2 공급으로 인한 용존산소량의 감소가 세포의 성장에 미치는 영향을 알 수 없으므로 그에 대한 실험을 진행 중이다.

요약

본 실험의 결과, *H. pluvialis*의 배양에 있어서 고농도의 CO_2 를 공급함으로써 세포의 성장속도가 의미 있게 증가함을 알았고, 더불어 CO_2 가 공급되는 경우, acetate와 같은 유기탄소원이 오히려 세포의 성장을 저해함을 알 수 있었다.

참고문헌

1. M. Borowizka, "Commercial production of microalgae : ponds, tanks, tubes and fermenters." (1999), *Journal of Biotechnology*, **70**, 313-321.
2. J. Fabregas, J. Abalde, C. Herrero, B. Cabezas, M. Veiga, "Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations." (1984), *Aquaculture*, **42**, 207-215.
3. F. Chen, H. Chen, X. Gong, "Mixotrophic and heterotrophic growth of *Haematococcus lacustris* and rheological behaviour of the cell suspensions" (1997), *Bioresource Technology*, **62**, 19-24.

또한 CO_2 가 공급되어지는 경우가 그렇지 않은 경우보다 성장속도가 매우 빨랐는데, 이는 앞에 언급된 바와 같이 고농도의 CO_2 가 acetate의 존재유무보다 훨씬 더 세포의 성장에 많은 영향을 미친다는 것을 알 수 있다. 다음의 Figure 2에 보여지는 바와 같이 CO_2 의 공급은 일반적으로 알려진 바와 같이 pH를 안정화하여 세포성장에 긍정적인 효과를 준다고 보여진다. 그러나