

Radiofrequency를 이용한 조류배양 시스템 개발

이정훈¹, 허문성², 강효석¹, 신동선¹, 서효현¹, 모지홍¹, 김은애¹, 유서종², 이건설³, 이택건³, 모상현^{1*}

¹바이오에프디앤씨 항노화연구소, ²플러스, ³한국해양연구원

*e-mail: shmoh@biofdnc.com

Development of Algae Culture System by Radiofrequency modulation

Jeong Hun Lee¹, Mun Seong Heo², Hyo Seok Kang¹, Dong Sun Shin¹,
Hyo Hyun Seo¹, Ji Hong Moh¹, Eun Ae Kim¹, Ser Jong Yoo², Gunsup Lee³,
Taek-Kyun Lee³, Sang Hyun Moh^{3*}

¹Anti-aging Research Institute of BIO-FD&C Co.,Ltd. ²PLUS

³South Sea Environment Research Department, Korea Ocean Research and Development Institute

요 약

본 연구는 고주파를 발생시키는 고주파기기를 이용한 조류배양시스템에 관한 것으로, 미세조류 배양 시 고주파 파형을 이용하는 것이다. 미세조류 배양을 위한 생물반응기에 200KHz ~ 400KHz 고주파 파형이 나오도록 설계되었으며, Osillograph상에서 impedance가 최소가 되는 특정 지점에서 공명을 일으킬 때, 전기적 저항은 최소가 되며, 이상적인 고주파 파형 발생으로 생물반응기내의 미세조류의 Survival과 Growth에 직접적인 영향을 미치는 것을 확인하였다. 본 연구의 고주파 파형을 이용한 조류배양 시스템 개발은 자외선 흡수능을 높이는 조류배양에 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 미세조류세포 내의 다양한 신호전달에 관련된 특정 피토키미칼, 펩타이드, 단백질 대사 연구에 유용하게 활용될 수 있다.

1. 서론

고주파(Radiofrequency) 전류는 100KHz 이상의 전류를 말하는 것으로, 고주파 전류를 피부탄력강화 혹은 체지방 분해에 도움을 주기 위해 인체에 직접적으로 사용하기도 한다. 인체조직에 고주파전류를 통전시킬 때, Oscillation impulse가 매우 짧으며, 전기적 저항으로 인해 열이 발생한다. 고주파 전류의 맥동기간이 0.001ms에 지나지 않아 다른 전류형태와는 달리 운동신경 등에 자극이 미미하여 근육수축을 유발시키거나 불편감을 주지 않아 개인클리닉, 병원 등에서 고주파전류를 이용하는 심부투열치료기가 널리 활용되고 있다 (표 1).

[표 1] 단파 및 극초단파 심부투열치료기의 주파수와 파장

	주파수	파장
단파심부투열치료기	13.66 MHz	22m
	27.12 MHz	11m
	40.98 MHz	7.5m
극초단파심부투열치료기	433.9 MHz	69.0cm
	915 MHz	33.0cm
	2,456 MHz	12.25cm

200KHz ~ 400KHz의 고주파의 경우 초당 20만번에서 40만번 정도 Sin 및 Cos파형을 그리며 전기적 분극으로 인한 고주파 파형 반응 범위 내에 있는 특정 세포 혹은 입자들은 분극분자의 진동운동과 회전운동 그리고 비분극분자의 뒤틀림으로 인해 열이 발생될 수 있다. 고주파 파형은 식물세포, 동물세포, 조류세포, 균사체 등 생물체를 구성하는 세포들에게도 직접적, 간접적으로 영향을 미칠 수 있다. 고주파 파형과 전류의 세기를 적절히 조절하여 세포배양 혹은 배양된 세포에서 고주파를 통한 인위적인 물리적 스트레스를 배양세포체에 유발시켜 특정 유용 산물 생산에도 활용될 수 있다.

한편, 바다는 지구 표면적의 71%를 차지하며 지구상 생물의 80%인 1천만종이 넘는 생물이 서식하는 자원의 보고이다. 다양한 산물을 분비해 내는 해양 생물체들은 생물산업의 근간이 되는 많은 기능성 물질들을 생산할 수 있다. 바다에 서식하고 있는 다양한 미세조류는 식품 원료, 사료, 의약 원료, 화장품 원료 등 다양하게 활용될 수 있다.

바다에 사는 미세조류에는 그 환경적 특성상 자외선(UV)에 많이 노출되어 있으며, 미세조류가 UV damage로부터 방어하기 위해서 자외선 흡수물질들을 함유하고 있어서 자외선 차단 보조제 용도로서 화장품용 소재로 개발할 활용가치가 높아 보인다.



[그림 1] 플라스크에 배양중인 다양한 미세조류종

육상식물보다 더 직접적으로 UV 조사에 영향을 받는 해양식물체의 UV 방어 기작에 대해서는 많이 연구된 바 없고, 최근에 mycosporine-like amino acids (MAAs)를 중심으로 UV protection에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다. 특히, 우리나라 연안에 서식하고 있는 *Heterosigma akashiwo*, *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum minimum*은 자외선 흡수능이 높은 미세조류들이다. 그리고 또한, 극지방에 사는 *Phaeocystis pouchetii* 및 *Phaeocystis antarctica* 역시 MAAs를 많이 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.

[표 2] 자외선 흡수능을 지닌 MAA 종류 및 구조

MAA 종류	특성	2차 구조	3차 구조
Asterina	미세조류에서 유래한 MAAs의 한 종류로 자외선 흡수능이 있는 물질	<chem>COC1=CC(=C(C=C1)N(CO)C(=O)O)O</chem>	
Shinorine	미세조류에서 유래한 MAAs의 한 종류로 자외선 흡수능이 있는 물질	<chem>COC1=CC(=C(C=C1)N(C(=O)O)C(=O)O)O</chem>	
Porphyrin	미세조류에서 유래한 MAAs의 한 종류로 자외선 흡수능이 있는 물질	<chem>COC1=CC(=C(C=C1)N(C(=O)O)C(=O)O)O</chem>	

이러한 높은 자외선 흡수능을 갖는 미세조류는 배양에 여러 가지 어려움이 많아 실질적인 연구개발이 미비하다. 이와 같은 미세조류의 배양을 용이하게 하거나 배양과정 중 MAAs와 같은 자외선 흡수능을 갖는 물질의 생산을 높일 수 있다면, 자외선 차단

소재로서의 개발을 통한 화장품 산업에 널리 이용될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 조류세포나 식물세포를 배양할 수 있는 생물반응기(Bioreactor)에 고주파 파형을 전달할 수 있는 전극을 부착하여 고주파파형을 조절할 수 있도록 고안하여 조류배양 연구에 사용될 수 있는 조류배양 시스템을 개발하였다. 이러한 조류배양 시스템은 MAAs를 함유하는 미세조류 종의 최적 성장 및 MAAs 물질함량을 높이는 연구에 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1. UV 흡수능이 높은 미세조류 종 선별

우리나라 연안에서 자라는 미세조류인 *Heterosigma akashiwo* 종을 1L 플라스크에서 배양하였다.



[그림 1] 플라스크에 배양중인 *Heterosigma akashiwo* 종

2.2 고주파 파형 처리용 생물반응기 제작

실험에 사용될 수 있도록 Autoclave가 가능한 고주파 전극 부착 유리 생물반응기를 5L, 10L를 제작하였다.



[그림 1] 고주파 파형 처리용 5L (좌) 및 10L (우) 생물반응기

2.2 생물반응기에 적합한 고주파 파형 발생장치 제작

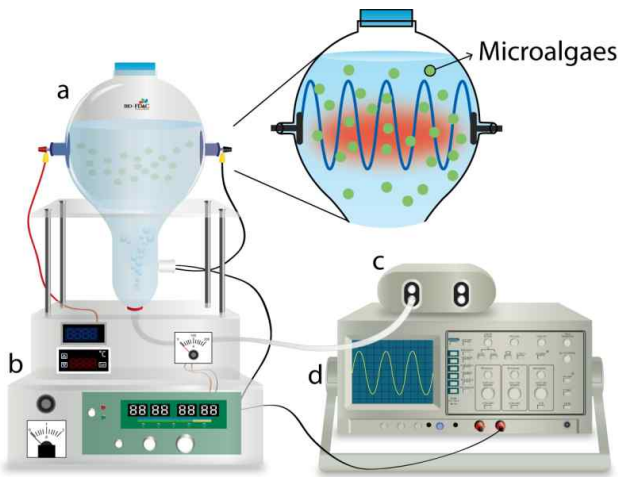
고주파 파형 처리용 5L Scale의 유리생물반응기에 Out put Power가 20W~40W 정도가 발생할 수 있도록 고주파 파형 발생장치의 Printed Circuit Board (PCB)에 배열하여, Internal power supply circuit, Oscillator circuit, Amplifier, Resonator circuit, Power modulator, Heat diffuser 등을 적절히 배치하여 구성한다.

2.3 고주파 조절 배양 시스템 안전성 시험

안전성(Safety) 확인을 위하여 고주파 파형 처리용 5L Scale의 유리생물반응기에 물 4L를 채운다음, 금붕어 4마리를 사용하여 300KHz에 20W Out power 1시간 처리하여 금붕어 상태를 관찰한다. 이 때 대조군으로 일반 5L Scale 유리생물반응기에도 같은 수의 금붕어를 넣고, 같은 처리시간동안 관찰한다.

2.4 고주파 조절 배양 시스템

우리나라 연안에서 자라는 미세조류인 *Heterosigma akashiwo* 종을 2주간 생물반응기 내에서 배양한 다음은 적정 간격으로 고주파 파형을 처리하면서 성장속도에 대해 조사한다.



Algae Culture System by RF modulation

- a: Bioreactor b: Radiofrequency(RF) device
c: Air supplier d: Osillographer

[그림 2] Radiofrequency를 이용한 조류배양 시스템 모식도

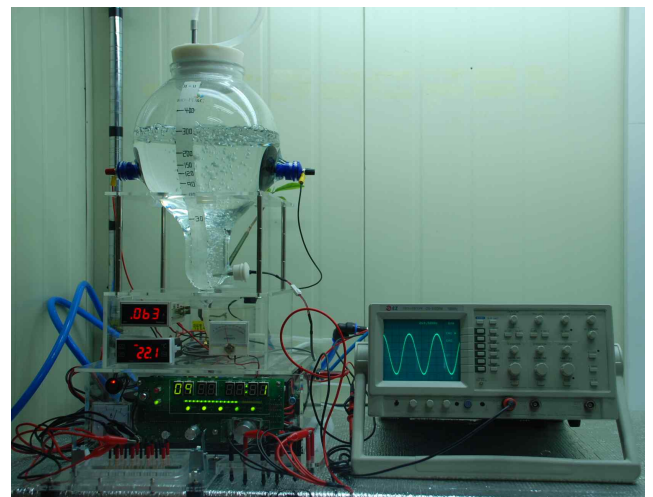
3. 결과 및 고찰

3.1 고주파 파형 처리용 생물반응기 내 안전성 확인

고주파 파형 처리용 생물반응기 내 금붕어 4마리를 사용하여 300KHz에 20W Out power 1시간 처리하더라도 금붕어 활동성은 변화가 특별히 없으며, 사람이 보이지 않을 시 고주파를 처리시키지 않는 생물반응기 내 금붕어 군과 마찬가지로 유사한 활동성이 관측되었다. 3번 반복 실험했는데, 관찰자의 경우에 따라 고주파 처리군의 금붕어 활동성이 조금 더 증가하는 경향을 보였다. 이러한 이유는 1시간동안 300KHz의 고주파로 처리되었을 경우 온도변화가 1℃ 정도 상승하는 것에 기인했거나 고주파 파형 자체에 금붕어가 반응하여 생긴 결과 일수도 있을 것이다.

3.2 고주파 조절 배양 시스템의 완성

고주파 전극이 부착된 유리생물반응기 내 적정한 공기 및 200KHz ~ 300KHz 정도의 고주파 주파수의 조절을 통한 미세조류 배양에 관한 조건을 정립하였다.



[그림 3] 실제 고주파 조절 배양 시스템 모식도

4. 결론

고주파 파형을 이용한 조류 배양용 생물반응기는 금붕어가 있는 상태에서 2시간 이상 20W 이상의 고주파 전류를 흘려주더라도 금붕어의 활동성은 줄지 않았으며, 조건에 따라 더 금붕어의 활동성은 증가됨도 알 수 있었다. 생물반응기 내에서의 안전성(Safety)은 문제가 없으며, 특정 미세조류 종 뿐만 아니라 다양한 식물세포 등에도 널리 이 배양 시스템을 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 이러한 고주파 파형의 처리는 식물세포 배양시 유용산물 증가를 위한 Elicitor처리와 병용될 경우 더욱 다양하고 유용한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 생명을 가지고

있는 세포 혹은 단위세포체로 구성된 생물체는 외부의 물리적, 화학적 스트레스 조건에 따라 그 생명체가 Growth를 멈추고, Survival 전략으로 갈 것인지, 혹은 Survival이 아닌 세포체 혹은 개체 증식을 위한 Growth로 갈 것인지는 달라질 수 있으며, 이러한 것에 비추어 고주파 파형 처리를 이용한 생물반응기의 개발은 외부의 물리적 환경에 반응하는 세포 내부의 chemical, peptide, protein 등 다양한 생체분자들의 기능과 대사 연구에 직접적으로 이용될 수 있으며, 나아가 식물세포배양 연구, 미세조류배양 연구 등에 널리 활용될 수 있을 것이다. 특히, 미세조류 중 자외선 흡수능을 지닌 MAAs과 같은 미세조류 종의 이상적인 배양 조건을 탐색하여, 자외선 처리와 고주파 처리를 통한 MAAs 생산 증대에 관한 조류 종 개발 및 배양 조건을 정립한다면, 자외선 차단제 소재 분야에 크게 기여할 것으로 사료된다.

5. 감사의 글

본 연구는 국토해양부 과제 (PJT200461)의 지원을 받아 수행되었습니다.

6. 참고문헌

- [1] Cohen R. (1986) Radiofrequency and microwave radiation in the microelectronics industry. *Occup Med.* 1(1):145-54. Review.
- [2] Cagliari A, Margis R, Maraschin FdS, Turchetto-Zolet AC, Loss G, Marcia Margis-Pinheiro M (2011) The International *Journal of Plant Biology* 2:40-52.
- [3] Casas-Mollano JA, Jeong BR, Xu J, Moriyama H, Cerutti H. (2008) *PNAS* 105:6486-91.
- [4] Wijffels R H and Barbosa M J (2010) *SCIENCE* 329: 796-799.