

<단보>

해수산 *Chlorella*의 최적 배양 조건에 관한 연구

임진영 · 조만기* · 한봉호

부경대학교 식품공학과, *동서대학교 산업기술연구센터

Optimal Culture Conditions for Marine *Chlorella* in a Vertical Tubular Photobioreactor System

Jin-Young LIM, Man-Gi CHO* and Bong-Ho HAN

Department of Food science & Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Engineering Research Center, Dongseo University, Pusan 617-716, Korea

To obtain informations for construction of a mass culture system, factors affecting on the specific growth rate of marine *Chlorella* sp. purchased from the Chungmu Laboratory of the South Sea Fisheries Institute, the National Fisheries Research and Development Agency were investigated using a vertical tubular photobioreactor (VT-PBR) system. Optimal temperature, illumination intensity, air- and CO₂- flow rate for *Chlorella* sp. were 20°C, 6,000 lux, 0.56 vvm and 0.028 vvm, respectively.

Key words : culture condition, marine *Chlorella* sp.

서 론

생태계 전반에 걸쳐 광합성에 의해 생산되는 유기물의 연중 생산량은 2×10¹¹톤으로 추정되고 있다. 이 중 식물성 플랑크톤이 총 생산량의 50% 이상을 차지하고 있으며, 이는 수산 생물 분야에 있어서의 미세 조류의 중요성을 시사한다고 하겠다. 미세 조류는 어패류 양식을 위한 *Rotifer* 등 동물성 플랑크톤의 먹이생물로 이용되거나 (Hur and Kim, 1988), 연료, 비타민, β-carotene, EPA와 같은 고도 불포화 지방산, 단백질 및 천연색소 등의 고부가가치 소재의 공급원으로도 이용될 수 있어서, 효율적 이용을 위한 다양한 연구가 진행되어 오고 있다 (Becker, 1981; Hartig et al., 1988).

현재는 단세포 조류의 중요성이 인정되면서 상업적 생산을 위한 연구가 이루어지고 있고, 일부 생산이 이루어지고 있으나, 아직까지 완벽한 성공 단계에는 이르지 못하고 있다. 우리 나라에서도 미세 조류에 대한 연구가 일부 이루어지고 있으나 (Hur and Kim, 1988), 소규모의 연구용 및 종묘 보관용 이외에 산업적 규모의 대량 배양은 이루어지지 않고 있다. 국내 양식업계에서는 치어의 먹이로 사용하고 있는 *Rotifer* 등의 동물성 플랑크톤의 먹이인 *Chlorella*를 주로 개방식 배양조에서 생산하고 있다. 개방식 배양조는 단위 면적당 생산성이 매우 낮을 뿐만 아니라, 오염이 심하고, 온도 조절이 불가능하여 일년 중 일정 시기에만 집중적 배양이 가능하다. 그러므로 부족량은 수입에 의존하고 있어서 매년 100억원 상당의 *Chlorella* 농축액이 수입되고 있다.

따라서 미세 조류의 산업적 이용을 위하여서는 대량 배양조의 개발이 요구되며, 배양조의 개발에는 미세 조류의 증식 속도에 영향을 미치는 온도, 조도, 공기 및 CO₂의 공급 속도와 pH 등에 대한 기초연구가 필수적이다. 그러므로 본 연구에서는 미세조류 중 실제 어민들이 이용하고 있는 *Chlorella*를 대상으로, 이들 인자들이 증식 속도에 미치는 영향과 최적 배양 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 배양용 *Chlorella* sp.

배양용 *Chlorella*로는 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소에서 어민들에게 공급하기 위하여 노천에서 배양하고 있는 해수산 *Chlorella* sp.를 사용하였다.

2. 실험장치

Chlorella sp. 배양에 사용한 Vertical tubular photobioreactor (VT-PBR)의 전체 운전 시스템의 개략도는 Fig. 1에 나타내었다. 배양조는 회분식의 bubble column reactor 형태로서 몸체를 유리로 제작하였으며, 빛 공급장치, 온도 조절 장치, 공기 및 CO₂ 공급속도 조절기로 구성하였다.

빛 공급 장치로는 3파장 램프 4개를 배양조의 주위에 10 cm 간격으로 배치하였고, 점등하는 램프의 수에 따라 조도가 조절되도록 하였으며, 조도계 (luxmeter, ANA-F 9, Japan)를 사용하여 빛의 강도를 측정하였다.

배양 온도는 항온기 (MO.MIR 152, SANYO, Japan)를 이용하여 일정하게 유지되도록 하였다. 기체의 공급은 최대 유량이 4 l/min인 펌프로 행하였고, 공기와 CO₂의 공급속도는 유량계로 조절하였다. 공기와 CO₂의 혼합 기체는 아스피레이터를 이용하여 만들어 로우터미터 (RMA-13-SSV, DWYERINC, U.S.A.)를 이용하여 공급하였다. 외부로부터의 오염을 최소화하기 위하여 각 기체의 입구에는 공기 여과기를 장착하였다. 배양조 몸체는 직경 3.2 cm, 높이 32 cm로 멸균이 가능하도록 제작하였으며, 윗 부분은 실리콘 패키징으로 완전 밀봉한 후, 직경 2 mm의 유리관을 사용하여 미세 조류의 광합성 과정에서 생기는 산소 및 비용해성 잔여 기체가 배출되도록 하였다.

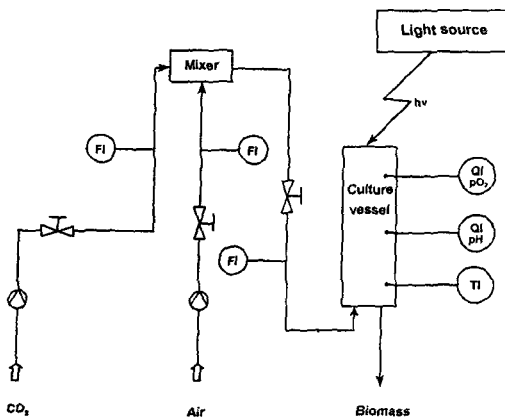


Fig. 1. Flow diagram of the culture system.
 FI-Flow Indicator
 QI-Quality Indicator
 TI-Temperature Indicator

3. 실험 방법

(1) 배양용 배지: *Chlorella* sp. 배양용 배지로는 Table 1에 나타낸 바와 같은 성분 조성의 f/2배지 (Guillard and Ryther, 1962)를 조제하여 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

Table 1. Composition of the f/2 culture medium (Unit: mg/l Seawater)

Components	Contents	Components	Contents
Biotin	1.0	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.012
CoCl ₂	0.11	NaNO ₃	150.0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.0196	Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	60.0
Ferric EDTA	10.0	Thiamine · HCl	0.2
MnCl ₂	0.22	Vitamine B ₁₂	1.0
Na ₂ HPO ₄	8.69	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.044

(2) 세포의 수: 일정 시간 간격으로 배양액의 표면으

로부터 10 cm 깊이의 배양액 일정량을 채취하여 혈구 계측기와 광학현미경으로 계수하였으며, 5회 반복한 평균값으로 세포수를 구하였다.

(3) 최대 비증식속도: 온도 17°C~25°C, 조도 3,000 lux~20,000 lux, 공기의 공급속도 0.56 vvm~5.56 vvm, 그리고 CO₂의 공급속도 0.028 vvm~0.083 vvm의 범위에서 각각 조건을 달리하였을 때의 *Chlorella* sp.의 최대 비증식속도는 다음의 식으로 계산하였다.

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

여기서 μ_{max} 는 최대 비증식속도 (day⁻¹), x_0 및 x 는 초기 ($t=0$) 및 일정 배양 시간 ($t=t$) 후의 *Chlorella*의 농도 (cells/ml), 그리고 t 는 배양 시간 (day)을 나타낸다.

결과 및 고찰

1. 온도의 영향

Chlorella sp.의 최적 배양온도를 설정하기 위하여 공기 공급속도를 2.78 vvm, 조도를 20,000 lux로 고정시키고, 17°C, 20°C 및 25°C에서 10일 동안 배양하였을 때의 *Chlorella* sp.의 증식 곡선을 Fig. 2에 나타내었다.

최대 비증식속도 μ_{max} 는 20°C에서는 0.33 day⁻¹로서 가장 컸으며, 17°C에서는 0.23 day⁻¹, 25°C에서는 0.29 day⁻¹였다. 이는 수온이 30°C 이상이거나 10°C 이하일 때

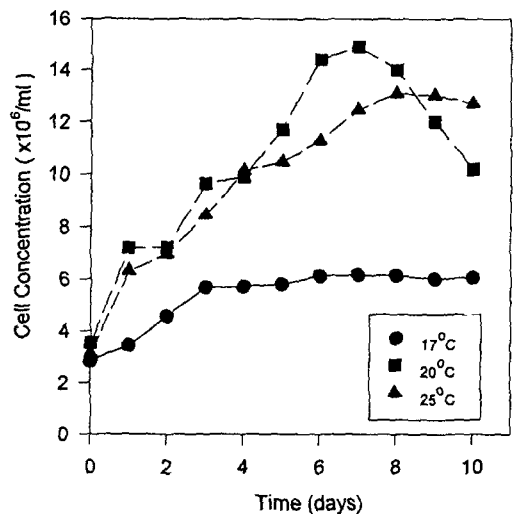


Fig. 2. Growth curves of *Chlorella* sp. in a VT-PBR at different temperatures. Illumination intensity: 20,000 lux, Air flow rate: 2.78 vvm

*Chlorella*의 증식속도가 늦어진다는 Okauchi and Fukusho (1984)의 보고와 일치하는 결과였다.

2. 공기 공급속도의 영향

배양 온도를 20°C로 고정하고, 조도 20,000 lux에서 공기의 공급속도를 0.56 vvm~5.56 vvm의 범위에서 달리하였을 때의 *Chlorella* sp.의 증식 곡선을 Fig. 3에 나타내었다.

공기 공급속도가 0.56 vvm일 때 μ_{max} 가 가장 커서 0.52 day⁻¹였으며, 1.67 vvm일 때 0.46 day⁻¹, 2.78 vvm일 때 0.33 day⁻¹, 그리고 5.56 vvm일 때 0.30 day⁻¹였다. 즉, 공기 공급속도가 빨라질수록 μ_{max} 가 작아지는 경향을 보였다. 이는 VT-PBR의 몸체가 직경 3.2 cm, 높이 31 cm로 다소 작기 때문에 VT-PBR의 몸체와 공기 방울 사이의 마찰이 *Chlorella* sp.에 물리적 손상을 입히기 때문으로 생각되었다. 또한, Fig. 3에서 보듯이 배양 초기 3일까지는 공기의 공급속도가 1.67 vvm이상일 때에 *Chlorella* sp.의 성장이 오히려 빠른 경향을 나타내었는데, 이는 공기 중의 CO₂가 배양액 중에 상대적으로 많이 용해되었기 때문으로 생각되었다. 배양 3일 이후부터는 *Chlorella* sp.가 급격하게 성장하면서 산소를 대량 배출함에 따라 배양액 중의 용존 산소 농도가 높아지지만, 공기의 공급속도가 빠를수록 산소가 머처 배양액에 용해되기 전에 제거됨에 따라 *Chlorella* sp.의 성장이 빨라진 것으로 생각되었다 (Weisman et al., 1987; Boogerd et al., 1990).

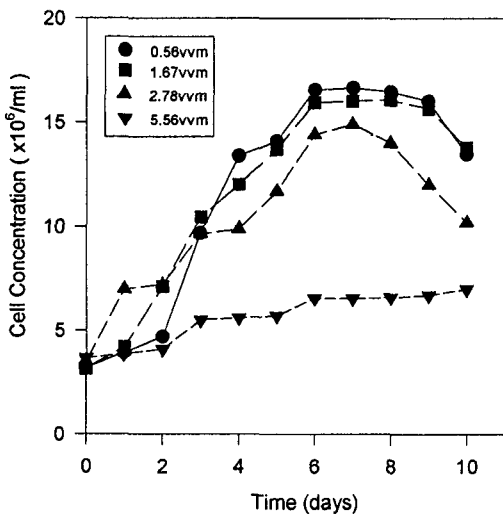


Fig. 3. Growth curves of *Chlorella* sp. in a VT-PBR with different air flow rates. Cultivation temperature : 20°C, Illumination intensity : 20,000 lux

3. 조도의 영향

배양 온도를 20°C로, 공기의 공급 속도를 0.56 vvm으로 고정하고, 조도를 6,000~20,000 lux의 범위에서 달리하였을 때의 *Chlorella* sp.의 증식 곡선을 Fig. 4에 나타내었다. 조도가 6,000 lux일 때의 μ_{max} 가 0.65 day⁻¹로서 가장 컸으며, 10,000 lux, 15,000 lux 및 20,000 lux일 때의 μ_{max} 는 각각 0.55 day⁻¹, 0.39 day⁻¹ 및 0.52 day⁻¹였다. 즉, *Chlorella* sp.는 조도가 높아질수록 증식속도가 감소하는 경향을 보였다. 이는 조도가 너무 높으면 오히려 *Chlorella* sp.의 photosynthetic receptor system PS II가 손상을 입어서 광선이 오히려 증식저해 (photoinhibition)를 야기시키기 때문으로 생각되었다 (Stryer, 1987).

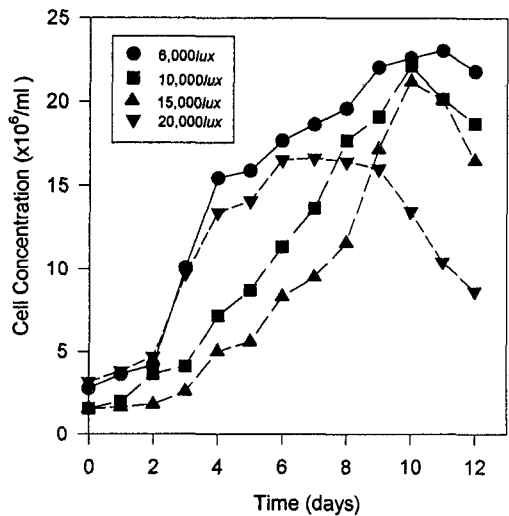


Fig. 4. Growth curves of *Chlorella* sp. in a VT-PBR during cultivation under different illumination intensity. Cultivation temperature : 20°C, Air flow rate : 0.56 vvm

4. CO₂ 공급속도의 영향

배양액 중의 CO₂의 농도 즉, CO₂의 공급속도와 *Chlorella* sp.의 증식곡선과의 관계를 Fig. 5에 나타내었다. CO₂의 공급속도가 0.028 vvm일 때 *Chlorella* sp.의 μ_{max} 가 가장 커서 0.12 day⁻¹였으며, 0.056 vvm 및 0.083 vvm일 때는 0.10 day⁻¹ 및 0.06 day⁻¹였다. 그리고 CO₂ 공급량이 가장 적은 0.028 vvm에서는 pH가 5.0 이하로 낮아져서 *Chlorella* sp.가 거의 성장하지 못하거나 농도가 감소하는 경향을 나타내었다. 그러므로 본 연구의 조건에서는 *Chlorella* sp. 배양 중의 CO₂ 공급은 7시간 간격으로 행하는 것이 적절하였다. 그리고 VT-PBR의 용량이 너무 작은 경우에는 CO₂를 소량 공급하여도 배양액의 pH가 낮아지기 때문에 (Weissman et al., 1987; Boogerd et al., 1990), CO₂

의 계속적인 공급보다는 배양액의 pH에 따라 CO₂가 유가적으로 보충 (incremental feeding)하여야 함을 확인하였다.

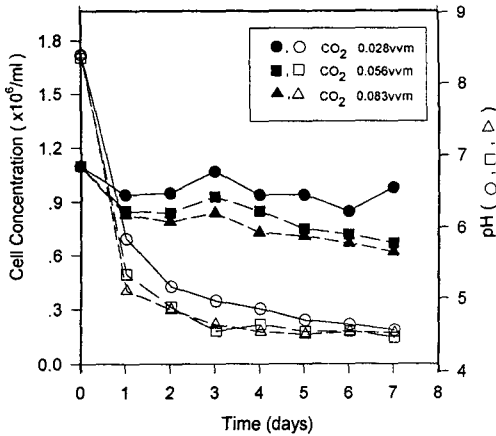


Fig. 5. Growth curves of *Chlorella* sp. and pH changes in a VT-PBR during cultivation with different CO₂ flow rate. Cultivation temperature : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux

요 약

미세 조류의 성장에는 적당한 영양염 이외에 온도, pH, 조도 및 CO₂ 공급 등을 필요로 한다. 이들 증식 속도에 영향을 미치는 인자를 고려한 대량 배양 시스템을 제작하고자, VT-PBR을 이용하여 국내 해수산 *Chlorella* sp.의 배양 조건을 검토하였다. 국립수산진흥원 남해수산연구소 층무분소에서 어떤에게 공급하고 있는 *Chlorella* sp.의 배양 최적 조건은 온도 20°C, 조도 6,000 lux, 공기 공급 속도 0.56 vvm, 그리고 CO₂ 공급속도는 0.028 vvm였다.

감사의 글

본 내용은 농림부 주관의 현장애로기술개발사업의 일환으로 수행된 연구 결과의 일부로서, 이에 깊이 감사드립니다.

참 고 문 헌

Becker, E.W. 1981. Algae mass cultivation - Production and utilization. *Process Biochemistry*, 8/9, 10~14

Boogerd, F.C., P. Bos, J.G. Kuenen, J.J. Heijnen, R.G.J.M. van der Lans. 1990. Oxygen and carbon dioxide mass transfer and the aerobic, autotrophic cultivation of moderate and extreme thermophiles : A case study related to the microbial desulfurization of coal. *Biotechnol. Bioeng.*, 35, 1111~1119.

Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatom, I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea*. *Gram. Can. J. Microbiol.*, 8, 229~239.

Hartig, P., J.U. Grobbelaar, C.J. Soeder and J. Groeneweg. 1988. On the mass culture of microalgae : A real density as an important factor for achieving maximal productivity. *Biomass.*, 15, 211~221.

Hur, S.B. and H.J. Kim. 1988. *Chlorella* cultivation for mass cultur of rotifer, *Brachionus plicatilis*. I. Selection of suitable *Chlorella* species. *J. Aquaculture.*, 1, 135~143.

Okauchi, M. and K. Fukusho, 1984. Environmental conditions and medium required for mass culture of a minute algae. *Tetraselmis tetraathele*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 5, 1~11.

Stryer, L. 1987. *Biochemie*. Vieweg Verlag, Braunschweig, Wiesbaden, 330.

Weissman, J.C., R.P. Goebel, J.R. Beneman. 1987. Photobioreactor design-Mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. *Biotechnol. Bioeng.*, 31, 336~344.

1997년 8월 14일 접수
1997년 12월 29일 수리