

*Spirulina platensis*의 옥외배양 최적화 및 오염생물 구제

김충재¹ · 정유희¹ · 최강국¹ · 박용하² · 안치용¹ · 오희목^{1*}

(¹한국생명공학연구원 환경생명공학연구소, ²생물자원센터)

Optimization of Outdoor Cultivation of *Spirulina platensis* and Control of Contaminant Organisms

Choong-Jae Kim¹, Yun-Ho Jung¹, Gang-guk Choi¹, Yong-Ha Park², Chi-Yong Ahn¹
and Hee-Mock Oh^{1*}

¹Environmental Biotechnology Center and

²Biological Resource Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

Outdoor cultivation of cyanobacterium *Spirulina platensis* was carried out for 40 days in a batch mode. A half concentration of the SOT based on the underground water was used as culture medium. Working volume was 5.7 tons with 0.2 m depth. During cultivation, mean water temperature, DO and light intensity were all in proper conditions for the *S. platensis* growth. The adjustment of pH to over 10 with Na₂CO₃ and addition of the 1.5% natural salt were very effective to delete contaminant organisms, *Chlamydomonas moewusii* and *Chlorella minutissima* occurred one after the other in the culture. The mean productivity of the biomass based on the dry cell weight from 14 to 25 days, after the contaminants were deleted, was 7.8 g·m⁻²·d⁻¹, which was relatively high productivity in that a half concentration of the SOT was used for the culture. Underground water used in the culture minimized contaminants invasion and addition of the 1.5% natural salt was effective to delete contaminants as well as acted as mineral supplement in outdoor cultivation of *S. platensis*. Harvesting using the floating activity of *S. platensis* was effective from mass floating in day time after overnight without agitation and illumination.

Key Words: culture vessel, floating activity, outdoor mass culture, *Spirulina platensis*

서 론

Spirulina (*Arthrospira*)는 사상형의 단세포성 남세균(cyanobacteria, blue-green algae)으로 아프리카, 아시아, 남아메리카, 유럽 등에 분포하며(Fox 1996), 열대, 아열대 지역의 알칼리성 환경에서 잘 증식하는 특징을 갖고 있다(Castenholz 1989). *Spirulina*는 60-70%의 단백질, 풍부한 비타민(vitamin B₁₂, β-carotene)을 함유하고, 불포화지방산인 GLA(gamma-linolenic acid)를 다량 함유하여 혈액순환 및 면역강화제로서 유용하며(Walach *et al.* 1987), 피코시아닌(phycoyanin), 마이소크산토펜(myxoxanthophyl), 제아산틴(zeaxanthin) 등의 색소는 향산화물질, 식품첨가물 등으로

이용되고 있다. 최근에는 애완동물용 및 수산양식용 사료의 첨가제, 건강보조식품 등 다양한 분야에서 이용되고 있으며, 세포벽은 셀룰로스(cellulose)가 없으므로 산업적으로도 매우 유용한 것으로 알려지고 있다(Kay 1991; Vonshak 1997; Vonshak and Tomaselli 2000).

*Spirulina*의 상업적 대량생산은 1970년대 말부터 본격적으로 이루어지기 시작하였다. 멕시코의 Sosa Texcoco Co.에서 최초의 옥외 대량배양이 시작되었고(Durand-Chastel 1980; Ciferri 1983), 그로부터 멕시코(*Spirulina Mexicana SA*), 태국(*Siam Algae Co., Ltd.*), 일본(*Nippon Spirulina Co., Ltd.*), 이스라엘(*Koor Foods Co., Ltd.*), 미국(*Earthrise Farms, Cyanotech Corporation*), 대만(*Nan Pao Resins Chemical Co., Ltd.*, *Blue Continent Co., Ltd.*, *Far East Microalgae Co., Ltd.*, *Tung Hai Chlorella Co., Ltd.*), 인도(*Parry Agro Industries Ltd.*), 중국(*Yunnan Spirin Co., Ltd.*, *Hainan DIC Microalgae*

*Corresponding author (heemock@kribb.re.kr)

Co., Ltd.) 등 여러 지역에서 성공적인 대량생산이 이루어지면서 현재는 연간 3,000 tons을 상회하고 있다(Shimamatsu 2004). *Spirulina*의 옥외 대량배양은 본 조류가 bicarbonate 또는 carbonate가 풍부한 알칼리성의 수환경과 높은 수온(30-35°C) 조건에서 잘 증식하므로 주로 열대나 아열대지역에서 이루어져왔다(Busson 1971). 옥외 대량배양을 위한 시설은 원형(circular)이나 수로식 못(raceway pond)이 전통적으로 이용되어 왔고, 미국의 Earthrise Farms에서는 15개의 독립된 수로식 못(15,000 m³)을 시설하고 하천수를 이용하여 성공적인 대량배양을 수행하고 있다(Vonshak 1997). 국내에서는 실내 배양기를 이용하여 배양조건에 따른 *Spirulina*의 증식 및 지방산 조성 등의 연구가 보고된 바 있으나(Joo et al. 1998, 2000) 옥외 대량배양에 대한 보고는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 대규모의 옥외 대량배양조를 시설하고 이를 이용한 *Spirulina*의 대량배양을 통하여 환경 조건을 모니터링하였고, 오염생물의 제거, 생산성, 수확 및 옥외 대량배양의 최적 조건에 관한 연구를 수행하였다. 특히, 본 연구는 지하수를 배양에 사용하여 외부로부터 유입되는 오염생물을 최소화하고 풍부한 함량의 미네랄 성분을 활용하여 생산성의 향상을 이루고자 하였다.

재료와 방법

옥외 대량배양조

옥외 배양은 비닐하우스 시설 내부에 투명 아크릴을 이용하여 길이 10 m, 폭 3 m, 높이 0.4 m(최대 10 tons)의 수로식(raceway type)으로 제작하여 설치하였다(충남 공주시 장기면 제천리 소재). 대량 배양조의 한쪽 끝에 급수 시설을 하여 배양수의 공급을 용이하게 하였다. 대량 배양조의 내부에는 길이 7 m, 폭 0.3 m, 높이 0.4 m(최대 0.8 tons)의 수로식 배양조를 시설하여 접종물 배양을 위한 배양조로 이용하였다. 배양수의 순환(circulation)을 위하여 대량 배양조의 한쪽 수로에 수차(paddle wheel)를 설치하였고 반대쪽 수로에는 광합성 효율을 증가시키기 위하여 원통형 air stone(L 80 mm, Φ 30 mm)을 5열로 4개씩 설치하여 폭기하였다.

사용 균주

본 연구에 사용한 *Spirulina platensis* NIES 46(이하 *Spirulina*) 균주는 일본 국립환경연구소로부터 분양받았다. 본 균주는 실험실 실온(25-30°C)에서 증류수에 SOT 배지 조성(Table 1)(Zarouk 1966)으로 하여 계대배양하였고, 이를 200-L 광생물 반응기로 대량배양하여 옥외 배양을 위한 접종물(seed)로 사용하였다.

Table 1. Recipe of SOT medium (Zarouk 1966)

Substance	Content (mg · 100 ml ⁻¹)
NaHCO ₃	1,680
K ₂ HPO ₄	50
NaNO ₃	250
K ₂ SO ₄	100
NaCl	100
MgSO ₄ · 7H ₂ O	20
CaCl ₂ · 2H ₂ O	4
FeSO ₄ · 7H ₂ O	1
Na ₂ EDTA	8
A ₅ solution	0.1 ml
A ₅ solution (100 ml ⁻¹)	
H ₃ BO ₃	286
MnSO ₄ · 7H ₂ O	250
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	22.2
CuSO ₄ · 5H ₂ O	7.9
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	2.1

전배양(preculture)

실내 배양된 *Spirulina*는 옥외 배양조 내부의 접종물 배양조에서 15일간 전배양하였다. 배지는 지하수를 SOT 배지 조성(Zarouk 1966)으로 하여 0.6 tons 규모로 배양하였다. 배양 조건은 air stone에 의한 폭기 외에는 자연 조건으로 하였다. 배양된 *Spirulina*는 접종물 배양조의 밑부분에 지하수를 공급하면서 반대편 상부로부터 배양된 조체가 대량 배양조로 유입되도록 하였다.

수질 및 생물량(biomass) 측정

배양수의 수온, pH, 용존산소는 YSI meters(630/100 and 95/100 FT, YSI Inc., Yellow Spring, OH)를, 광도는 조도계(LI-100 DataLogger, LI-Cor, Inc.)를 이용하여 매일 오후 1시에 동일한 장소에서 측정하였다. 배양 조체의 생물량(biomass)은 GF/C(Whatman) 여과지를 이용하여 20 ml의 배양수를 여과하고 40 ml의 증류수로 남아있는 염을 녹인 후 103-105°C에서 1시간 동안 건조하여 무게를 측정하였다(g · L⁻¹). 생산성(productivity, g · m⁻² · d⁻¹)은 조체의 생물량을 면적(area, m²)으로 환산하여 계산하였다.

오염생물의 동정

배양 과정 동안 발생한 오염생물을 동정하기 위하여 18S rDNA의 염기서열 분석을 수행하였다. 현장에 출현한 오염생물은 SOT 고체배지에 도말하여 순수 분리하였다. 순수 분리된 균주로부터 G-spin™ IIP^{For plant} Genomic DNA Extraction Kit(Intron Biotech., Korea)를 사용하여 genomic DNA를 분리 · 정제하였다. 18S rDNA의 증폭을 위한 primer는 SR-6(*Volvox carteri*, 891-910: GTC AGA GGT GAA ATT

CTT GG)와 SR-9(*Volvox carteri*, 1286-1267: AAC TAA GAA CGG CAT GCA C)을 사용하였다(Nakayama et al. 1996). 18S rDNA 증폭은 Thermal cycler(GeneAmp PCR system 2700, Perkin Elmer, USA)를 사용하여 수행하였다. PCR 반응조건은 전 변성 과정으로 94°C에서 4분간 수행하였고, 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 45초씩 30회 반복하고 마지막에는 72°C에서 7분간 최종 반응시켰다. PCR 산물은 agarose gel로 전기영동(electrophoresis)하고, Gel extraction kit(Intron, Korea)를 이용하여 정제한 후, 3730XL Capillary DNA Sequencer (ABI, U.S.A.)를 이용하여 증폭된 염기의 서열을 확정하였다. 확정된 염기서열은 BLAST search를 이용하여 GenBank와 EMBL database에서 가장 유사한 18S rDNA 염기서열을 갖는 종을 선택하였다.

배양과 수확

배양은 지하수에 1/2 SOT 배지 조성(Zarouk 1966)으로 하여 5.7 tons(수심 0.2 m)의 규모로 2005년 6월 23일부터 40일간 배양하였다. 배양된 접종물은 본 배양수의 대략 1/10의 수량으로 하였다. 수차는 0.5 m·s⁻¹의 속도로 10분 간격을 두고 3시간씩 가동하였고, 폭기는 연속 가동하였다. 증발에 의한 배양수의 감소는 지하수로 보충하였다. 수차와 air stone을 이용한 폭기 이외에는 자연 조건하에서 배양하였다. 배양수는 매일 실험실에서 현미경으로 관찰하여 오염생물의 출현 및 조체의 상태를 확인하였다. 배양된 조체는 하루 밤 동안 수차의 가동을 중지시켜서 *S. platensis*의 부상하는 특징을 이용하여 수확하였다. 표층으로 부상된 조체의 덩어리를 수집하여 플라크톤 넷(20 μm, Ø)로 농축한 후 진공 동결 건조하였다.

결과와 고찰

수온, 광도, pH, 용존산소

배양 기간 동안의 수온은 23.6°C에서 34.2°C의 범위로 측정되지 않은 날을 제외한 평균 수온은 30.4°C로 높게 나타났다(Fig. 1). 이는 비닐하우스 시설 내부에서 배양하여 기온에 비하여 10°C 정도 높게 나타난 결과였다. *S. platensis*의 최적 증식 수온의 범위가 30-38°C 범위로 알려져 있으므로(Vonshak 1997) 배양 기간 동안의 수온은 *S. platensis*의 최적 증식 온도 범위로 나타났다. 비닐하우스 시설을 이용할 경우 10°C 이상의 평년기온을 보이는 5월부터 10월까지의 특별한 가온 시설 없이 *S. platensis*의 옥외 배양이 가능할 것으로 판단된다. 광도의 경우, 116 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹(배양 18일째)에서 2,340 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹(배양 19일째)의 범위로 평균 1,282 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹였다(Fig. 1). Vonshak and Guy(1992)는 광저해에 의한 광합성 활성의 감소로 옥외

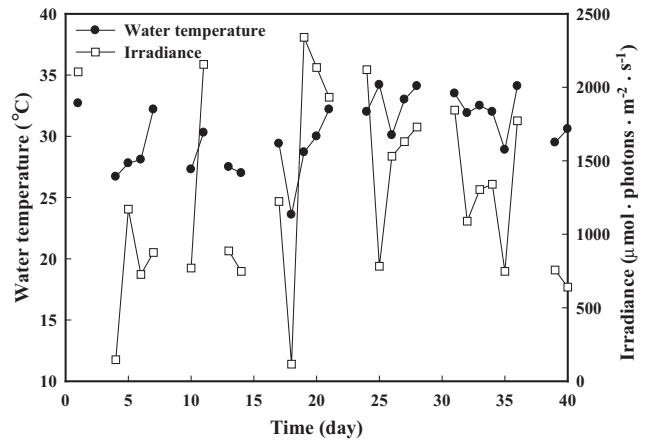


Fig. 1. Changes of water temperature and irradiance during outdoor mass cultivation of *Spirulina platensis*.

대량배양의 생산성은 감소함을 보였고, Vonshak et al.(1996)은 *Spirulina* 3균주를 대상으로 산소 발생률을 이용하여 광저해의 정도를 조사한 결과, 1,500 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹에서는 20-21%, 2,000 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹에서는 39-44%, 3,500 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹에서는 50% 이상의 광저해를 보고하였다. 높은 광도로부터의 광저해는 적절한 광도로 조정되면서 회복되므로(Ohad et al. 1984; Samuelsson et al. 1987; Vonshak and Richmond 1988; Vonshak et al. 1988), 본 대량 배양에서 두드러진 광저해는 발생하지 않았을 것으로 판단된다. 본 대량 배양에서는 광도가 1,500 μmol·photons·m⁻²·s⁻¹을 넘었을 경우에는 유속을 1.0 m·s⁻¹로 증가시켜 세포가 높은 광에 연속적으로 노출되는 시간을 줄이고자 하였다. 그러나 높은 일사량이 지속될 경우에는 급격한 수온의 상승과 38°C 이상의 수온 조건은 생산성의 저해요인으로 작용하므로 비닐하우스 시설 내에 환풍시설을 통하여 지나친 수온의 상승을 방지하여야 한다.

Fig. 2에서와 같이 pH는 배양 초기에는 8.9였으나 오염생물의 혼입 및 증식을 방지하고자 탄산나트륨을 첨가하여 점차 증가시켜서 10 이상으로 조정하였다(배양 21일째). 그 이후에는 pH는 큰 변동없이 10.1에서 10.3의 범위를 유지하였다. 용존산소는 배양 초기에 11 mg·L⁻¹까지 증가하였으나 그 이후에는 7.5에서 8.5의 범위로 안정적이었다(Fig. 2). 용존산소 농도는 낮동안 배양 생물의 활발한 광합성에 의해 높은 농도를 보이는 것이 일반적인 현상으로 광합성 저해요인으로 작용한다. 그러나 본 배양에서는 수차와 air stone에 의한 원활한 배양수의 순환과 교반에 의해 안정적인 농도를 유지할 수 있었다.

오염생물의 동정과 구제

*S. platensis*의 옥외 배양시 직면하는 주요한 문제 중 하나는 오염생물의 출현이다. *S. platensis*의 노지 배양 시 녹조류인

Table 2. Contaminant organism and productivity of *S. platensis* at each phase during mass cultivation

Phase	Contaminant organism	Productivity ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)		Culture period (day)
		Mean	Maximum	
I	-	4.7	11.3	0-3
II	<i>Chlorella moewusii</i>	-	-	4 - 9
III	<i>Chlamydomonas minutissima</i>	-	-	10 - 13
IV	-	7.8	16.6	14 - 25
V	-	6.8	20.4	26 - 40

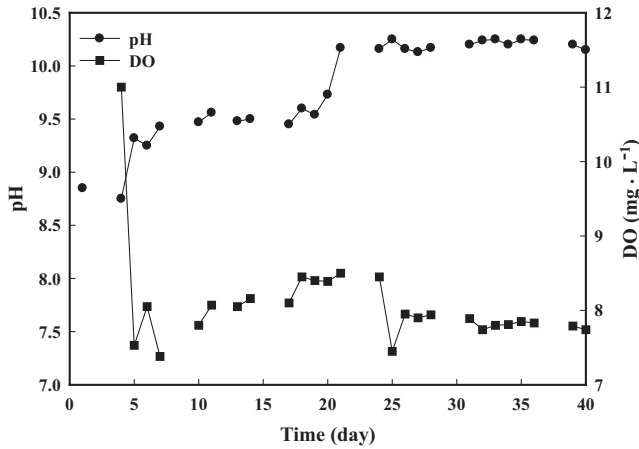


Fig. 2. Changes of pH and dissolved oxygen concentration during outdoor mass cultivation of *Spirulina platensis*.

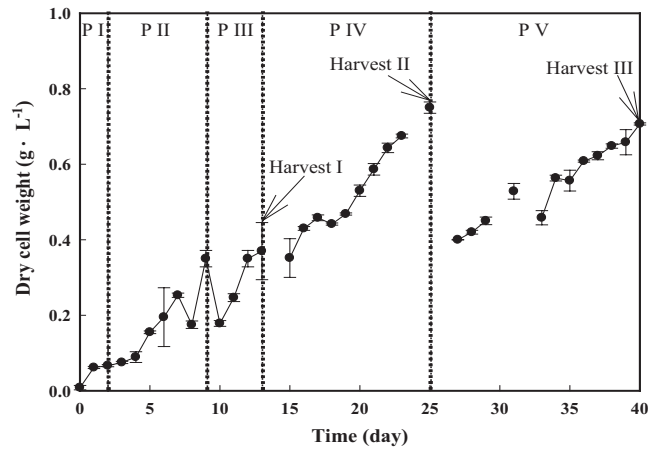


Fig. 3. Dry cell weight of *Spirulina platensis* during outdoor mass cultivation. Data indicate means \pm SD ($n = 3$). Phases (P I - P V) were divided by occurrence of the contaminant organisms and harvesting of *S. platensis* (see Table 2).

*Chlorella*는 대표적인 오염생물로 알려져 있다(Vonshak and Richmond 1988). *Chlorella*의 구제를 위해서는 높은 알칼리성 조건에서 잘 증식하는 *S. platensis*의 특징을 이용하여 pH를 높이는 방법을 이용하는 것이 일반적이다(Vonshak et al. 1983). 본 배양에서 출현한 오염생물의 동정은 18S rDNA 염기서열을 이용하였다. 배양 3일째부터 오염생물의 출현이 확인 되어, 동정한 결과 *Chlamydomonas moewusii*와 99%의 유사성을 가지고 있었으며, 10일째에 출현한 오염생물은 *Chlorella minutissima*와 99%의 유사성을 가진 것으로 동정되었다. 두 균주의 18S rDNA 염기서열의 NCBI 등재 번호는 DQ345293 (*Chlamydomonas moewusii*)과 DQ345294(*Chlorella minutissima*)이다.

배양 과정 동안 오염생물의 출현시기는 Table 2에 나타나 있었다. *C. moewusii*는 배양 3일째부터 출현하기 시작하여 4일째부터 대량 증식이 관찰되었다. 배양 5일째부터 7일까지의 급격한 건중량의 증가는 오염생물인 *C. moewusii*의 대량 증식에 기인하였다(Fig. 3). 따라서 배양 5일째에 담수산 *C. moewusii*의 구제를 위하여 천일염을 0.5%가 되도록 첨가하고 탄산나트륨을 첨가하여 pH를 9.3까지 증가시켰다. 그 결과 6일째부터 배양수에 대량의 거품이 형성되면서 사멸한 녹조는 배양조의 벽면에 띠를 형성하면서 부착하였다. *C. moewusii*의 사멸에 따라 배양 9일째의 건중량은 $0.18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 로

감소하였다. 배양 10일째에는 다른 오염생물인 녹조류 *Chlo. minutissima*의 증식이 확인되어 천일염 1%를 추가로 첨가하였다. 그 결과 *Chlo. minutissima*는 수조의 벽면에 대량으로 부착하면서 사멸하였다. 수조에 형성된 거품과 벽면에 부착한 오염생물을 제거하면서 배양 13일째부터 거품의 발생은 관찰되지 않았고 오염생물의 출현도 확인되지 않았다. 그러나 사멸된 녹조의 덩어리들이 저면에 부분적으로 침적하는 현상도 확인되어, 체를 이용하여 제거하였다. 본 연구에서는 오염생물의 혼입을 최소화하기 위하여 비닐하우스 시설 내에서 배양하였으나 녹조류인 *C. moewusii*와 *Chlo. minutissima*가 연속적으로 출현하였고, 이들을 구제하기 위하여 인위적인 pH의 증가 및 천일염의 첨가는 매우 효과적이었다.

배양

오염생물을 구제한 후부터는 정상적인 배양이 이루어지면서 배양 13일째에 소량 수확하여 조체의 건중량은 $27.3 \text{ g} \cdot \text{ton}^{-1}$ 이었다(Fig. 3, Harvest I). 배양 17일째에는 전일에 비하여 건중량이 감소하였는데 이는 수조의 벽면과 저면에 부착되어 있는 오염생물을 제거했기 때문이었다. 건중량은 다시 증가하기 시작하여 배양 25일째에는 건중량은 $0.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

로 증가하여 대량 수확하였고(Fig. 3, Harvest II), 수확 후 17일간 더 배양하여 40일째 $0.71 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 로 증식하였고 이를 전량 수확하였다(Fig. 3, Harvest III). 배양 기간 동안의 조체의 생산성(productivity, $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)은 Table 2에서와 같이, 오염생물이 제거되고 안정적인 배양이 이루어진 14일부터 수확하기 전인 25일까지는 최고 $16.6 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 였고 평균 $7.8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 였다. 대량 수확이 이루어진 배양 25일째 이후부터 배양 최종일까지의 생산성은 최고 $20.4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 였고 평균 $6.8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 였다. 배양 기간이 길어지면서 생산성은 감소하였고, 배양수의 색은 청남색 계열에서 녹색 계열로 바뀌면서 영양성분의 소진 및 성분간 불균형에 기인한 것으로, 배양의 초기에 발생한 오염생물의 대량 증식에 의하여 탄소, 질소 및 인 성분의 상당한 양이 소비된 것이 생산성 저하의 원인인 것으로 판단된다. 그러나 *S. platensis*의 적절한 배양 기간은 주요 영양성분(macroelement)의 소비 정도를 기준으로 하지만, 유광층에서 잔존하는 시간의 감소 정도에 의하여 생물량 기준으로 조체의 건조 중량이 $0.4\text{--}0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 에 이르렀을 때가 수확의 적기로 제안되고 있다(Vonshak 1997).

배양에서 사용한 천일염은 담수산 오염생물의 구체뿐만 아니라 배양수에 풍부한 미네랄 성분을 공급함으로써 생산성의 향상에 기여한 것으로 판단된다. 또한 천일염은 NaCl, CaCl_2 , MgSO_4 , K_2SO_4 등의 무기염을 다량 함유하므로, SOT 배지 조성(Zarouk 1966)에 사용되는 NaCl, $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2SO_4 등의 성분을 대신하여 사용한다면 경비절감 및 생산성의 향상을 유도할 수 있을 것이다. 오염생물은 생산된 조체의 품질의 저하의 주요 원인이므로, 미연에 혼입을 방지하기 위하여, 전배양 시 조체의 상태, 오염생물의 혼입과 증식의 정도를 고려하여 pH를 10 이상으로 조절하는 것이 바람직할 것이다.

*S. platensis*의 옥외 배양에서 배양수의 선택은 생산성에 영향을 미치는 가장 중요한 요인 중 하나이다. 멕시코의 Sosa Texcoco에서는 sodium bicarbonate(Na_2HCO_3)를 생산하는 호수에서 *Spirulina*가 대량으로 증식하여 이를 옥외 대량배양에 응용하였다. 이와 같이 carbonate(CO_3) 또는 bicarbonate(HCO_3)가 풍부한 배양수를 사용하는 것이 가장 효과적이지만, 이는 매우 제한되므로 *Spirulina*의 옥외 대량배양은 주로 하천수나 호소수를 이용하는 것이 일반적이다. 그러나 이러한 배양수는 다양한 오염생물을 포함하고 있으므로 생물량의 순도는 비교적 낮고, 다양한 영양성분을 포함하고 있는 해수 또는 기수에 적정량의 bicarbonate를 첨가하여 생산단가를 낮추는 시도가 이루어지고 있으나(Tredici et al. 1986; Olguín et al. 2003), 오염생물의 혼입은 생물량의 순도 저하의 주요 원인이 되고 있다. 반면 지하수는 수온은 비교적 낮지만 혼입된 오염생물이 적고 일정한 함량의 무기염류를 포함하여 *S. platensis*의 배양수로서 가능할 것이다. 이러한 지하수

의 특징을 이용하여 본 연구에서는 *S. platensis*의 옥외 배양을 위하여 지하수를 사용하였다. 지하수를 사용함으로써 혼입되는 오염생물을 최소화하고 풍부하고 일정한 함량의 미네랄 성분은 생산성 향상에 기여한 것으로 판단된다. 특히, 낮 동안의 강한 일사량으로 인한 배양수의 수온 상승에 따른 증발을 지하수($< 10^\circ\text{C}$)로 보충함으로써 *Spirulina*의 배양에 적절한 수온의 조절을 가능하게 하였다. 다만, 지하수에 포함되어 있는 많은 양의 칼슘이온이나 마그네슘이온은 영양성분이나 염의 첨가 시 침전물을 형성하여 조체의 생산성을 떨어뜨리는 원인으로 작용한다. 실험실에서 예비실험 한 결과, 본 연구에 사용한 지하수에 SOT 배지 성분(Zarouk 1966)을 첨가하여도 염의 침전은 형성되지 않았고, 여기에 천일염을 첨가했을 때에는 1.5%까지 안정한 것으로 나타났다. 따라서 지하수에 SOT 배지 조성(Zarouk 1966)으로 한 후, 적정량의 천일염을 첨가한다면 *Spirulina*의 생산성 향상에 크게 기여할 것이다. 그러나 본 배양에서는 지하수로부터 유래된 *C. moewusii*와 *Chlo. minutissima*가 연속으로 출현하여, 보다 높은 순도의 *S. platensis*를 생산하기 위하여 전배양 단계에서 pH의 인위적 상승이 요구되고 배양수로 사용하기 전에 자외선 살균이나 여과와 같은 과정이 필요한 것으로 판단된다.

배양에 있어서 배양수의 수심은 광합성 효율의 측면에서 생산성에 영향을 미치는 주요한 요소로 작용한다. 수심이 깊으면 빛 에너지의 이용률이 낮고, 얕으면 광저해가 발생할 가능성이 높게 되므로 적절한 수심의 조절이 요구된다. Olguín et al.(2003)은 *S. platensis*의 년간 배양에서 수심에 따른 생산성은 여름기간에는 0.2m에서 가장 높았고, 가을에는 0.25 m에서 가장 높은 결과를 보고하였다. 따라서 본 연구에서의 수심 0.2 m는 *S. platensis*의 대량 배양에 적절했던 것으로 판단되나, 배양의 최적화를 위하여 0.15 m, 0.25 m 등의 수심에서의 생산성에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다.

수확과 생산성

일부 남세균은 수괴에서 환경적·생리적 필요에 따라 적절한 위치로 이동하기 위하여 세포 내의 기공(gas vesicle)을 이용한다(Walsby 1994). *S. platensis*는 암조건에서는 침강하고 명조건에서는 부상한다. 이러한 부상특성을 이용하여, *S. platensis*를 수확하기 위하여 수차와 폭기 없이 야간 정치하였다. 이때에는 암조건으로 모든 조체가 침강하여 층(1-1.5 cm)을 형성하였고, 이 덩어리들은 명조건에서 서서히 부상하여 배양된 조체의 99% 이상이 배양수 표면으로 부상하였다. 이를 수집하여 용이하게 수확할 수 있었다. 또한 적절한 농도의 염(NaCl)의 첨가가 *S. platensis*의 부상 특성을 증가시킴으로써(Kim et al. 2005), 본 연구에서는 오염생물의 구제를 위하여 첨가한 1.5%의 천일염이 보다 효과적인 수확을 가능하게 한 것으로 판단된다. 그러나 일시에 침강하여 덩어리를

형성한 조체는 장시간 방치할 경우 부패의 가능성이 있으므로 오전 중에 수확함이 바람직하다.

배양 기간 동안 3회에 걸쳐 수확한 양은 건중량으로 총 $1,026 \text{ g} \cdot \text{ton}^{-1}$ 이었고 이를 기준으로 한 생산성(productivity)은 $5.4 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 였다. 그러나 일일 측정된 건중량(*in situ* dry weight)을 기준으로 했을 때는 보다 높게 나타났다. 가장 높은 일일 건중량은 $0.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (배양 25일째)였고(Fig. 3), 이를 기준으로 한 생산성은 $6.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 로 다소 낮은 값을 보였지만 대량 배양 동안 오염생물의 대발생과 지하수에 첨가한 배지 성분을 SOT 배지 조성(Zarouk 1966)의 절반으로 한 점 등을 고려하면 높은 값으로 볼 수 있을 것이다.

본 연구에서는 *S. platensis*의 옥외 배양을 위하여 대량 배양 조와 집중물 배양조를 새롭게 고안하였고 이를 비닐하우스 시설에 설치하여 배양을 수행하였다. 배양수는 지하수에 SOT(Zarouk 1966)의 절반의 영양성분을 첨가하여 40일간 배양하였고, 배양기간 동안 가장 높은 증식(건중량)에 도달했을 때의 일일 건중량은 $0.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (*in situ* productivity, $6.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)였고 총 $1,026 \text{ g} \cdot \text{ton}^{-1}$ 을 수확하여 성공적인 옥외 대량배양으로 판단된다. 배양 과정 중에 출현한 오염생물을 구제하기 위한 pH의 조절과 염의 첨가는 매우 효과적이었고, *Spirulina*의 부상활성을 이용한 수확법은 간편하고 효율적이었다. 본 옥외 대량배양의 시도는 향후 *S. platensis*와 같은 유용 미세조류의 대량 배양에 필요한 기초적인 정보를 제공할 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 과학기술부에서 지원하는 21세기 프로티어사업(이산화탄소 저감 및 처리기술, code DG2-101)의 일환으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Busson F. 1971. *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler et *Spirulina* geitleri J. de Toni, Cyanophycées Alimentaires. Service de Santé, Marseille.
- Castenholz R.W. 1989. Subsection III, Order Oscillatoriales. In: Staley J.T., Bryant M.P., Pfennig N. and Holt J.G. (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins Co., Baltimore. Vol. 3, pp. 1771-1780.
- Ciferri O. 1983. *Spirulina*, the edible micro-organism. *Microbiol. Rev.* **47**: 551-578.
- Durand-Chastel H. 1980. Production and use of *Spirulina* in Mexico. In: Shelef G. and Soeder C.J. (ed), *Algae Biomass*. Elsevier/NorthHolland Biomedical Press, Amsterdam. pp. 51-64.
- Fox R.D. 1996. *Spirulina production and potential*. Edisud, Aix-en-Provence, France.
- Joo D.S., Cho M.G., Buchholz R. and Lee E.H. 1988. Growth and fatty acid composition with growth conditions for *Spirulina platensis*. *J. Korean Fish. Soc.* **31**: 409-416.
- Joo D.S., Jung C.K., Lee C.H. and Cho S.Y. 2000. Content of phycocyanins and growth of *Spirulina platensis* with culture conditions. *J. Korean Fish. Soc.* **33**: 475-481.
- Kay R.A. 1991. Microalgae as food and supplement. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **30**: 555-573.
- Kim S.-G., Choi A., Ahn C.-Y., Park Y.-H. and Oh H.-M. 2005. Harvesting of *Spirulina platensis* by cellular flotation and growth stage determination. *Lett. Appl. Microbiol.* **40**: 190-194.
- Nakayama T., Watanabe S., Mitsui K., Uchida H. and Inouye I. 1996. The phylogenetic relationship between the Chlamydomonadales and Chlorococcales inferred from 18S rDNA sequence data. *Phycol. Res.* **44**: 47-55.
- Ohad I., Kyle D.J., Arntzen C.J. 1984. Membrane protein damage and repair removal and replacement of inactivate 32 kD polypeptides in chloroplast membranes. *J. Cell Biol.* **99**: 481-485.
- Olgún J.E., Galicia S., Mercado G. and Pérez T. 2003. Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *J. Appl. Phycol.* **15**: 249-257.
- Samuelsson G., Lonneborg A., Gustafsson P. and Öquist G. 1987. The susceptibility of photosynthesis to photoinhibition and the capacity of recovery in high and low light grown cyanobacteria *Anacystis nidulans*. *Plant Physiol.* **83**: 438-441.
- Shimamatsu H. 2004. Mass production of *Spirulina*, an edible microalga. *Hydrobiologia* **512**: 39-44.
- Tredici M., Papuzzo T. and Tomaselli L. 1986. Outdoor mass culture of *Spirulina maxima* in sea-water. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 47-50.
- Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): *Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis Ltd., London, U.K.
- Vonshak A., Boussiba S., Abeliovich A. and Richmond A. 1983. Production of *Spirulina* biomass: Maintenance of pure culture outdoors. *Biotechnol. Bioeng.* **25**: 341-349.
- Vonshak A., Chanawongse L., Bunnag, B. and Tanticharoen M. 1996. Light acclimation and photoinhibition in three *Spirulina platensis* (cyanobacteria) isolates. *J. Appl. Phycol.* **8**: 35-40.
- Vonshak A. and Guy R. 1992. Photoadaptation, photoinhibition and productivity in the blue-green alga *Spirulina platensis* grown outdoors. *Plant Cell Environ.* **15**: 613-616.
- Vonshak A., Guy R., Poplawsky R. and Ohad I. 1988. Photoinhibition and its recovery in two strains of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Plant Cell Physiol.* **29**: 721-726.
- Vonshak A. and Richmond A. 1988. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: an overview. *Biomass London* **15**: 233-247.
- Vonshak A. and Tomaselli L. 2000. *Arthrospira* (*Spirulina*): Systematic and Ecophysiology. In: Whitton B.A. and Potts

- M. (eds), *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands. pp. 505-522.
- Walach M.R., Bazin M. and Pirt J. 1987. Computer control of carbon-nitrogen ratio in *Spirulina platensis*. *Biotechnol. Bioengineer.* **29**: 520-528.
- Walsby A.E. 1994. Gas vesicles. *Microbiol. Rev.* **58**: 94-144.
- Zarouk C. 1966. Contribution à l'étude d'une cyanophycée.
- Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch. Et Gardner) Geitler, Ph. D. thesis, University of Paris, France.
-

Received 27 January 2006

Accepted 20 February 2006

