

발광다이오드 색상별 클로렐라 배양 특성 연구

Study for Cultivation of *Chlorella* sp. FC-21 under Different Colors of Light Emitting Diodes (LEDs)이 태 윤[†]

Lee, Taeyoon

ABSTRACT : The purpose of this study was to determine optimum condition for the cultivation of *Chlorella* sp. FC-21, which is a freshwater microalgae, using light emitting diodes (LEDs). Specific growth rate and cell concentration were measured for the reactors at the illumination of different wavelengths of LEDs. Among various types of LEDs, red LEDs were the most effective light source, and also greatest increases of specific growth rate and cell concentrations were obtained when light intensity of red LEDs increased. From this study, we found that red LEDs were the most appropriate light source for the cultivation of *Chlorella* sp. FC-21.

Keywords : Light emitting diodes, *Chlorella* sp. FC-21, RED LEDs, Carbon dioxide, Photobioreactor

요 지 : 본 연구는 담수미세조류의 일종인 클로렐라를 발광다이오드를 이용하여 효율적으로 배양하기 위한 조건을 찾기 위해 수행되었다. 클로렐라 배양에 최적인 파장을 찾기 위해 청색, 적색, 백색, 그리고 혼합광을 클로렐라가 포함된 반응기에 각각 조사하여 성장속도 및 셀농도를 측정하였다. 적색파장이 클로렐라의 성장에 가장 효율적이었으며, 광량이 증가할수록 성장속도 및 셀농도도 광량에 비례하여 가장 많이 증가하였다. 본 연구를 통해 클로렐라를 효과적으로 배양하기 위해서는 적색파장의 발광다이오드를 광원으로 사용하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

주요어 : 발광다이오드, 클로렐라, 적색파장, 이산화탄소, 광반응기

1. 서 론

생태계 전반에 걸쳐 식물성 플랑크톤에 의해 생산되는 유기물의 연중 생산량은 1×10^{11} 톤으로 추정되고 있다. 식물성 플랑크톤, 즉 미세조류는 어패류 양식을 위한 먹이생물로 이용되거나(Hur 등, 1988), 연료, 단백질 및 천연색소 등의 고부가가치 소재의 공급원으로 사용될 수 있어, 이에 대한 다양한 연구가 진행되어 오고 있다(Becker, 1981; Hartig 등, 1988).

이 중에서 미세조류(microalgae)를 바이오디젤의 원료로서 사용하는 것에 대해 많은 관심을 불러오고 있는데, 이는 바이오디젤의 사용은 많은 장점들이 있기 때문이다(Chisti, 2007; Gouveia 등, 2009). 예를 들면, 바이오디젤의 에너지 근원은 태양에너지이므로 고갈 문제가 없으며, 연소 시 발생하는 CO₂는 식물 또는 광합성 작용으로 회수되므로 재생 가능하며 탄소 중립적이다. 또한 자연분해도가 높아서 환경에 유출되어도 오염의 가능성이 낮다고 할 수 있다. 미세조류는 광합성을 통해 성장하기 때문에 기본적인 에너지원으로 빛, 이산화탄소, 물, 그리고 기타 영양소가 필요하다. 빛

에너지의 경우 태양광이나 인공조명으로 형광등을 사용하며, 이산화탄소의 경우 대기 중 이산화탄소를 사용하거나 필요할 경우 이산화탄소를 따로 공급해 주기도 한다. Ichimi 등 (2003)의 경우 발전소 또는 제철소에서 방출되는 이산화탄소를 이용하여 미세조류를 배양하기도 하였다. 이 경우 이산화탄소 구입비용은 들지 않으나 높은 이산화탄소 농도(~15% v/v)에 따른 미세조류 성장 저해문제가 발생하기도 하였다.

개방형 혹은 밀폐형 미세조류의 광배양 시스템에 있어 광원 및 광세기는 미세조류의 광합성 성장에 있어 가장 중요한 인자로 인식되고 있다(Mata 등, 2010). 개방형 배양의 경우 태양광이 가장 일반적인 광원이나 밀폐형 배양의 경우에는 형광등이 가장 많이 사용된다. 그러나, 형광등은 높은 유지비용 및 과도한 발생열로 인해 최근 광원으로 연구되는 발광다이오드(LEDs), 광섬유(Optical fiber)에 비해 배양 효율 및 경제성이 낮은 것으로 인식되고 있다(Chen 등, 2008). 이중 발광다이오드(LEDs)는 해당 미세조류의 광합성에 필요한 파장의 빛만 선택적으로 공급하여 전체적인 빛의 이용 효율성을 높일 수 있다. Wang 등 (2007)의 경우 적색 LED

(파장 660nm)를 이용하여 *Spirulina platensis*에 대해 높은 배양효율을 보여주었으며, *H. pluvialis*의 경우에는 청색 LED(파장 460nm) 사용 시 astaxanthin의 생산효율이 증가하였다(Katsuda 등, 2004). Lee와 Palsson (1994)은 *Chlorella pyrenoidosa*의 배양에 다양한 파장의 LED를 조합하여 최적의 배양조건을 연구하였다.

본 연구에서는 다양한 파장의 LEDs를 미세조류 배양에 활용하여 그 적용성을 검증하고자 하였으며, 이를 위해 한국해양 미세조류은행으로부터 분양받은 *Chlorella* sp. FC-21에 대해 적색, 청색, 흰색 LEDs 및 조합파장 LEDs를 적용하였다. 다양한 파장의 광조건에서 *Chlorella* sp. FC-21의 성장특성을 관찰하여 최적성장에 필요한 파장을 찾아내고 대량생산에 필요한 운전조건을 도출하여 바이오디젤의 원료로 사용하는데 있어 가능성 및 경제성을 검증하고자 한다.

2. 조사 및 분석방법

2.1 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 *Chlorella* sp. FC-21로 한국해양 미세조류은행(KMMCC, Korea)으로부터 분양받았다. 사용된 배지는 표 1에 나타난 바와 같은 성분의 JM배지(Jaworski's Medium)를 조제하여 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 광배양 챔버 제작

Chlorella sp. FC-21의 성장 실험은 LED 빛의 파장에 따

표 1. Jaworski's medium 조성 (단위: mg/L)

항목	농도
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	20
KH ₂ PO ₄	12.4
MgSO ₄ · 7H ₂ O	50
NaHCO ₃	15.9
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	36
NaNO ₃	80
EDTA FeNa	2.25
EDTANa ₂	2.25
H ₃ BO ₃	2.48
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.39
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	1.00
cyanobalamin	0.04
thiamine HCl	0.04
biotin	0.04

른 성장 속도를 비교하기 위해서 외부빛을 차단한 반응시스템을 구축하였다. 광원으로는 중심 파장 660nm로 발광하는 적색 LED, 450nm 파장의 청색 LED, 백색 LED, 복합 LED1 (RED:WHITE:BLUE=1:1:1), 복합 LED2(RED:BLUE =3:1)로 각각 제작하였다. 반응기는 가로 60cm, 세로 60cm, 높이 60cm와 가로 55cm, 세로 35cm, 높이 46cm 크기로 검은색 아크릴을 이용하여 제작하였다. LED 램프는 S-tech LED사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다(Ilsan, Kyongki, Korea). LED에 공급되는 전원은 모델 FP-60-12 파워공급기를 사용하였으며(Whawoo Tech. Co., Ilsan, Korea), 광원은 반응기의 상부에 설치하여 위에서 아래로 광을 공급하였다. 조도 및 광량의 조절은 반응시스템 외부를 둘러싼 반사판의 개폐정도에 따라 조절하였다. 조도기준으로 1,600lux에서 최대 9,000lux까지 변화시켜 다양한 빛세기 조건하에서 실험을 수행하였다. 총 3단의 반응조로 구성되어 있는데, 가장 낮은 1단에는 Mixed 형태의 조명이 설치되었고, 2단에는 백색 조명, 가장 높은 3단에는 적색 조명이 설치되었다. 각 단에 공급되는 전력은 68.4W로 일정하게 유지되었다. 조도와 광량은 조도계(I-346 Illuminometer, SEKONIC CORPM PHILIPPINES)와 광량계 (MQ-306, Apogee Instruments, Inc.)를 사용하여 각각 측정하였다.

2.2.2 미세조류 배양

Chlorella sp. FC-21의 성장특성은 각 실험조건에 따라 100mL 용량의 비이커에 희석한 초기배양액을 접종하여 계획한 초기농도로 맞춘 후 외부로부터의 오염을 막기 위하여 공기가 통과되므로 호기성 배양에 적합한 실리스토퍼를 사용하여 실험을 실시하였다.

온도조절은 실험실에 설치된 온도조절장치를 이용하여 반응기의 온도를 21~23°C로 일정하게 유지하였다. 배양액의 온도는 수온온도계를 이용하여 측정하였다.

2.3 분석방법 및 데이터 해석

세포 농도 (cells/mL)는 성장 측정을 위해서 Hemocytometer를 이용하여 광학현미경(AE2000, MOTIC, CHINA)을 통해 직접 계수하였다. 균체 건조량과 세포농도와의 관계를 알기 위해서 균체 건조량 (g/L)은 50mL의 배양액을 0.45µm의 membrane filter로 여과한 후 80°C에서 24시간 건조한 후 무게차로 결정하였다. 그 결과, 균체 건조량 = 0.00000002 × 세포농도 (상관관계=0.99)의 관계를 얻었다.

배지 내 *Chlorella* sp.의 성장에 필요한 성분인 질소와 인의 농도 변화를 분석하기 위해 COLORIMETER(DT/870, HACH, U.S.A.)를 사용하여 분석하였다. 질소의 경우 NO₃⁻(U.S. EPA

method 10020), 인의 경우 PO_4^{3-} (U.S. EPA method 8114)을 측정하였으며, NO_3^- 와 PO_4^{3-} 의 측정 시 각각의 측정 농도는 0~30.0mg/L, 0~45.0mg/L 였고, 오차 범위는 ± 0.5 mg/L, ± 0.1 mg/L 였다.

주어진 광조건에서의 *Chlorella sp.* FC-21의 최대 비증식 속도(specific growth rate)는 식 (1)로 계산하였다.

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

여기서, μ_{max} 는 최대 비증식속도(day^{-1}), x_0 및 x 는 초기($t=0$) 및 일정 배양 시간 후의 *Chlorella sp.* FC-21의 최대 농도 (cells/mL), 그리고 t 는 배양 시간(day)을 나타낸다.

3. 실험결과 및 해석

3.1 파장에 따른 성장특성

첫 번째 실험의 경우 반응기의 외부를 둘러싼 반사판을 모두 개방하여 조도와 광량을 최소값으로 설정한 후 실험을 실시하였다. 총 4가지 형식; RED, BLUE, WHITE, MIXED 형태의 LEDs를 반응조 각 단계 설치 후 배양을 실시하였다. 혼합형태의 LEDs는 RED, WHITE, BLUE LEDs 판을 각 1 개씩 설치하여 운영하였다. 4개 조명시스템에 투입된 전력은 각각 68.4W로 일정하게 공급하였다. WHITE LEDs의 경우 6,900Lux로 가장 높은 조도값을 보여주었으나 광합성에 사용되는 빛의 양을 나타내는 광량은 102 $\mu mol/m^2/s$ 였다. BLUE의 경우 조도는 1,900Lux였으나 광량은 가장 높은 165 $\mu mol/m^2/s$ 였다. RED의 경우 조도는 1,700Lux, 광량은

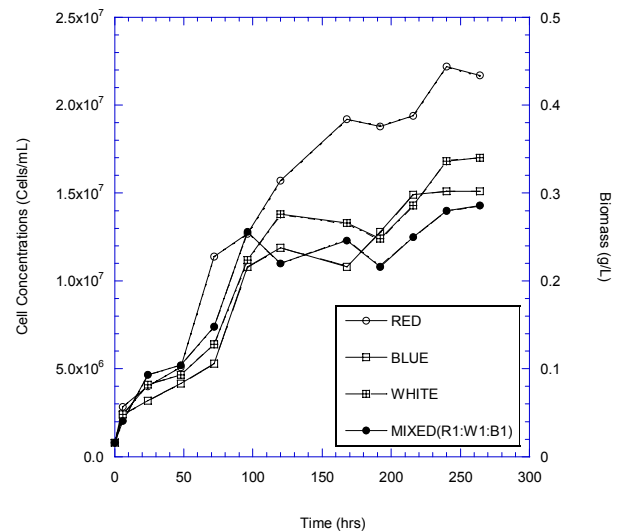


그림 1. 다른 종류의 LEDs 조명에서의 *Chlorella sp.* FC-21 성장곡선

50 $\mu mol/m^2/s$ 로 가장 낮은 값을 나타내었다. MIXED의 경우 중간정도의 조도인 4,000Lux 및 광량 115 $\mu mol/m^2/s$ 의 값을 보여주었다.

각 실험조건에 따른 *Chlorella sp.* FC-21의 성장특성은 그림 1에 나타나 있으며, 최대 비증식속도는 식 (1)을 이용하여 산출하였다(표 2).

그림 1에서와 같이 RED LEDs를 이용하여 배양할 때 가장 높은 비증식속도와 최대 세포농도를 얻을 수 있었다. 비증식속도의 경우 RED(0.30 hr^{-1})>WHITE(0.28 hr^{-1})>BLUE(0.27 hr^{-1})>Mixed(0.26 hr^{-1})으로 감소하였으므로, RED LEDs가 *Chlorella sp.* FC-21의 배양에 가장 효과가 좋은 것으로 판명되었다. WHITE, BLUE, MIXED의 경우 RED에 비해 광도가 높았으나, 실제 클로렐라의 성장에 미치는 영향은 적었다. 이는

표 2. LEDs 파장 및 광도에 따른 비증식속도, 최대셀농도, 및 바이오매스 함량 결과

Test Set	LEDs	Light Intensity		Specific growth rate (day^{-1})	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration (cells/mL)	Biomass (g/L)
		Lux	$\mu mol/m^2/s$				
1	RED	1,700	50	0.30	8.0×10^5	2.2×10^7	0.44
	BLUE	1,900	165	0.27	8.0×10^5	1.5×10^7	0.30
	WHITE	6,900	102	0.28	8.0×10^5	1.7×10^7	0.34
	Mixed (R1:W1:B1)	4000	115	0.26	8.0×10^5	1.4×10^7	0.28
2	RED	2,600	67	0.33	8.0×10^5	7.9×10^6	0.16
	WHITE	6200	90	0.27	8.0×10^5	6.9×10^6	0.14
	Mixed (R3:B1)	2,300	70	0.22	8.0×10^5	5.9×10^6	0.12
3	RED	4,400	116	0.42	8.5×10^5	4.6×10^6	0.09
	WHITE	9,000	140	0.33	8.5×10^5	3.3×10^6	0.07
	Mixed (R3:B1)	3,600	120	0.25	8.5×10^5	3.0×10^6	0.06
5	Fluorescent Light	4,500	56	0.17	8.5×10^5	3.0×10^6	0.06

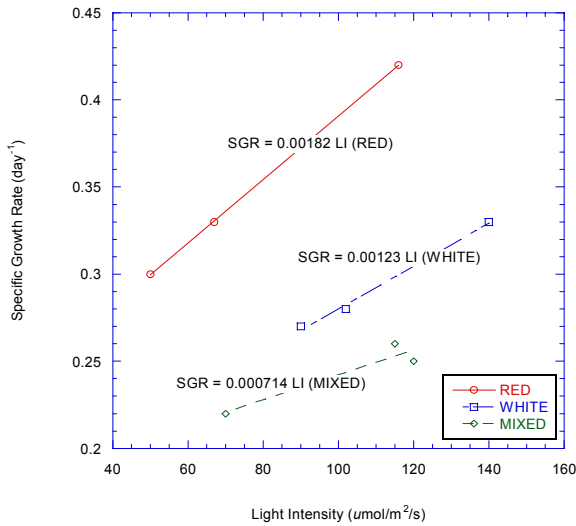


그림 2. 적색, 백색, 혼합 LEDs 조명에서의 클로렐라 비증식속도와 광량과의 관계(여기서 SGR은 specific growth rate를 Li는 light intensity를 의미함)

클로렐라와 보색관계인 RED 파장의 빛이 클로렐라의 성장에 매우 중요하게 작용했기 때문으로 판단된다.

3.2 광량에 따른 비증식속도 변화

2차와 3차 실험에서는 효율이 낮은 BLUE와 RED, WHITE, BLUE로 구성된 MIXED 형태의 조명을 배제하고 RED, WHITE, 그리고 3개의 RED 및 1개의 BLUE 조명으로 구성된 MIXED 형태의 조명에 대해 *Chlorella sp. FC-21*의 배양 특성에 대해 고찰하였다. 1차실험과 달리 반응기 주변의 반사판을 추가로 설치함으로써 조도 및 광량을 증가시켜 광량 증가에 따른 배양특성에 대해 알아보았다. 실험에 적용된 조도 및 광량, 그리고 비증식속도와 최대 세포농도는 표 2에 요약되어 있다.

비증식속도는 세가지 광원 모두에 대해서 광량이 증가할수록 같이 증가하는 것을 알 수 있었다(그림 2). RED LEDs의 경우 광량 증가에 따른 비증식속도의 증가가 가장 크게 나타났는데, 이는 *Chlorella sp. FC-21*의 배양에 있어 RED LEDs가 가장 효과가 크다는 것을 의미한다. 그림 2에 표시된 식은 비증식속도와 광량간의 관계를 나타내는 실험식으로 RED LEDs의 경우 가장 큰 기울기값을 보여주었다.

3.3 형광등을 이용한 *Chlorella sp. FC-21* 배양과의 비교

일반적으로 미세조류의 광배양에 많이 사용되는 형광등을 이용한 배양과 LEDs를 이용한 배양과의 비교를 위해 기존 형광등을 이용하여 클로렐라를 배양하였다. 배양조건은 RED LEDs를 이용한 실험조건과 같이 4,500Lux로 조도를

조절하였다. 이때 사용된 전력은 63W였으며 광량은 56μmol/m²/s였다(표 1). 이는 같은 조도에서 적색 LEDs의 광량이 더 크므로 광합성에 더 효율적이라는 것을 의미한다. 초기농도 8.5×10⁵ 일때의 비증식속도는 0.17day⁻¹이었는데, 이는 같은 초기농도일때의 RED LEDs의 배양속도 0.42day⁻¹보다 2.5배 작은 값이었다. 단, 실험에 사용된 형광등의 조도와 RED LEDs의 조도값은 정확히 일치하지 않고 100Lux 정도의 차이가 존재하였다.

위의 실험결과를 통해 *Chlorella sp. FC-21*의 배양에 있어서 RED LEDs가 형광등에 비해 훨씬 경제적이고 효율적인 배양광원인 것을 알 수가 있다. 또한 공기 주입은 균등한 광공급 및 이산화탄소 공급을 할 수 있으므로 광원 선정과 함께 중요한 배양요소로 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 *Chlorella sp. FC-21*을 효과적으로 배양하기 위한 광원을 선정하고자 다양한 파장의 LEDs와 혼합형식의 LEDs를 이용하여 배양을 하였다. 본 연구의 결과를 통해 최적 파장의 LEDs를 찾아낼 수 있었으며, 결론은 아래와 같다.

- (1) 적색, 백색, 청색, 혼합1(적색1: 백색1: 청색1), 혼합2(적색3: 청색1) 형태의 LEDs를 이용한 배양 실험 결과 적색 LEDs에서의 성장속도가 가장 빠른 것으로 확인이 되었다.
- (2) 각 파장 형태의 LEDs 조명 조건에서 광량의 증가는 클로렐라의 증식속도 증가로 이어졌으나, 적색의 경우 광량의 증가에 따른 증식속도의 증가가 가장 큰 것으로 밝혀졌다.
- (3) 적색 LEDs와 형광등을 광원으로 하여 클로렐라를 배양한 경우에는 적색 LEDs의 경우 초기 농도 2.0×10⁵cells/mL에서 0.42day⁻¹이었으나, 형광등의 경우에는 초기 농도 8.5×10⁵cells/mL에서 0.17day⁻¹로 두배 이상 감소하였다. 이는 적색 LEDs가 기존 광원인 형광등에 비해 배양에 훨씬 우수한 광원임을 알려준다.

감사의 글

이 연구는 지식경제부 산업원천기술개발사업(과제번호: 10037416, 해양 LED 융합기술지원 기반구축 및 상용화 기술개발)의 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

1. Becker, E.(1981). Algae mass cultivation - Production and Utilization, *Process Biochemistry*, Vol. 8/9, No. 2, pp. 10~14.
2. Chen, C., Saratale, G., Lee, C., Chen, P., Chang, J.(2008), Phototrophic Hydrogen Production in Photobioreactors Coupled with Solar-energy-excited Optical Fibers, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 33, No. 10, pp. 6878~6885.
3. Chisti, Y.(2007), Biodiesel from Microalgae, *Biotechnol. Adv.*, Vol. 25, No. 4, pp. 294~306.
4. Gouveia, L. and Oliveira, A.(2009), Microalgae as a Raw Material for Biofuels Production, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 36, No. 7, pp. 269~274.
5. Hartig, P., Grobbelaar, J., Soeder, C., Groeneweg, J.(1988), On the Mass Culture of Microalgae : A Real Density as an Important Factor for Achieving Maximal Productivity. *Biomass*, Vol. 15, No. 6, pp. 211~221.
6. Hur, S. and Kim, H.(1988), Chlorella Cultivation for Mass Culture of Rotifer, *Brachionus plicatilis*. I. Selection of Suitable Chlorella Species, *Journal of Aquaculture*, Vol. 1, No. 4, pp. 135~143.
7. Ichimi, K., Meksumpun, S., Montani, S.(2003), Effects of Light Intensity on the Cyst Germination of *Chattonella* sp. (Raphidophyceae), *Plankton Biology and Ecology*, Vol. 50, No. 7, pp. 22~24.
8. Katsuda, T., Lababpour, A., Shimahara, K., Katoh, S.(2004), Astaxanthin Production by *Haematococcus pluvialis* under Illumination with LEDs, *Enzyme Microbiology and Technology*, Vol. 35, No. 12, pp. 81~86.
9. Lee, C. and Palsson, B.(1994), High-density Algal Photobioreactors using Light-emitting Diodes, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 44, No. 7, pp. 1161~1167.
10. Mata, T., Martins, A., Caetano, N.(2010), Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, *Renewable Sustainable Energy Review*, Vol. 14, No. 2, pp. 217~232.
11. Wang, C., Fu, C., Liu, Y.(2007), Effects of using Light-emitting Diodes on the Cultivation of *Spirulina Platensis*, *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 37, No. 12, pp. 21~25.

(접수일: 2011. 8. 21 심사일: 2011. 9. 14 심사완료일: 2011. 10. 15)