

연구노트

LED 조명을 이용한 광생물 반응기에서의
Tetraselmis suecica 배양 연구

이제근 · 임준혁 · 이태윤*

부경대학교 환경공학과

(2012년 3월 7일 접수; 2012년 3월 26일 수정; 2012년 6월 5일 채택)

Cultivation of *Tetraselmis suecica* under Different Types of
Light Emitting Diodes

JaeKeun Lee, JunHyuk Lim, Tae-Yoon Lee*

Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 680-737, Korea

(Manuscript received 7 March, 2012; revised 26 March, 2012; accepted 5 June, 2012)

Abstract

The purpose of this study was to determine optimum conditions for the cultivation of *Tetraselmis suecica* (*T. suecica*) under illumination of four different types of LEDs (i.e., blue, red, white, and mixed). Initial cell concentration was 4×10^4 cells/mL and temperature of reactor was maintained between 21-24°C. Specific growth rates were 0.72 day⁻¹(white), 0.58 day⁻¹(red), 0.49 day⁻¹(mixed), and 0.49 day⁻¹(blue). Thus, white LEDs was used for the cultivation of *T. suecica*. Tests with white LEDs under different light intensity, which was conducted to determine optimum light intensity of white LEDs, showed that 9,000 lux of illumination resulted in fastest cell growth and greatest cell concentrations. To avoid shadow effects by dense cell populations, aeration was performed. Cell concentration increased 3.8 times when aeration was used.

Key Words : Light emitting diode, Photo-bioreactor, *Tetraselmis suecica*, Aeration, Biomass

1. 서론

인간 활동의 영향으로 지구온난화 및 화석연료 고갈이라는 환경문제가 대두됨에 따라 이를 대체하기 위한 신재생 에너지로서 바이오 연료가 각광받고 있다(Kim 등, 2008; Seo, 2008). 또한 산업체 배기가스로부터 이산화탄소를 고정화하는데 적합한 미세조류를 개발하기 위한 연구가 활발히 수행되고 있다

(Hamagata 등, 1992; Hamasaki 등, 1994; Laws과 Berning, 1991). 미세조류를 이용한 이산화탄소의 고정 및 바이오 디젤의 생산은 기후변화와 고유가로 대변되는 환경 및 자원 위기를 효과적으로 해결하기 위한 가장 현실적인 대안으로 떠오르고 있다.

미세조류(Microalgae)는 광합성 색소를 가지고 있어 태양광을 에너지원으로 사용하여 이산화탄소를 고정화하는 기능을 가지고 있는 광독립영양 생물이다. 최종 산물인 Biomass를 동물 사료나 바이오 연료로 재사용함으로써 이산화탄소 저감과 대체연료 생산이라는 장점을 가지고 있다(Joen 등, 2008; Karube 등, 1992; Stauber, 1998; Shon 등, 2004). 또한 미세조류

*Corresponding author : Tea-Yoon Lee, Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
Phone: +82-51-629-6530
E-mail: badger74w@pknu.ac.kr

는 태양광과 이산화탄소 등을 이용하여 비교적 적은 비용으로 대량배양이 가능하며, 극한 환경에서도 성장이 가능하고, 환경조건에 큰 증식력을 가지고 있다 (Radmer, 1996).

1938년에 개발된 형광등을 최근까지 미세조류 배양에서 흔히 사용했었지만 수은(10~50 mg), 납(10~12%) 성분이 함유되어 있어 중금속 규제와 함께 형광등 대신에 친환경 대체 조명으로 LED의 고체 조명이 주목 받고 있다(Kim 등, 2011).

따라서 본 연구에서는 LED 광원을 이용하여 해양 미세조류인 *Tetraselmis suecica*를 배양하였으며, 다양한 파장의 LED 중 미세조류 성장에 가장 효과가 큰 광원을 선정하고자 하였다. 비교 실험으로 기존 광원인 형광등을 이용하여 미세조류를 배양하여 LED 광원 결과와 비교하였다. 마지막으로 그림자효과에 의한 미세조류 성장저해를 해결하고자 공기주입을 하여 공기주입에 따른 성장변화를 살펴보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 *Tetraselmis suecica*(*T. suecica*)로 한국해양미세조류은행(KMMCC, Korea)으로부터 분양받았다. 사용된 배지는 Table 1에 나타낸 바와 같은 성분의 F/2배지를 조제하여 121 °C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

Table 1. F/2 medium composition (Unit: mg/L Deionized Water)

Component	Contents
NaNO ₃	150
NaH ₂ PO ₄	8.69
Ferric EDTA	10
MnCl ₂	0.22
CoCl ₂	0.11
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0196
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.044
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	50.0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.012
Vitamine B ₁₂	1.0 ug
Biotin	1.00 ug
Thiamine-HCl	0.2 ug
Filtered seawater	1L

2.2. 실험 장치

광생물반응기는 가로 60 cm, 세로 60 cm, 높이 30 cm의 크기로 제작하였으며 LED 램프는 S-tech LED 사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다(Fig. 1). 광원은 반응기의 상부에 설치하여 위에서 아래로 광을 공급하였다. 4개 조명시스템에 투입된 전력은 각각 60.0W로 일정하게 공급하였으며, 조도 및 광량은 실험조건에 따라 출입구 개폐정도에 따라 강도를 조절하였으며, 조도계(I-346 Illuminometer, Sekonic Co., Philippines)와 광량계 (MQ-306, Apogee Instruments, Inc., Logan, UT)를 사용하여 측정하였다.

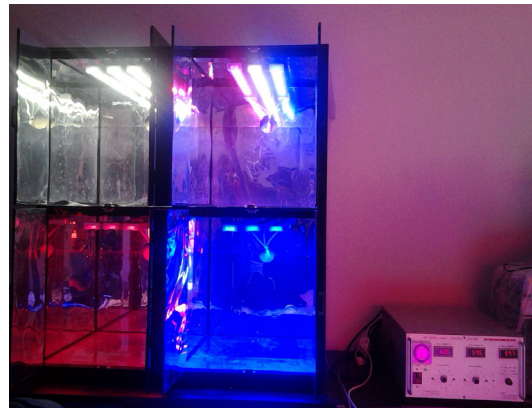


Fig. 1. Photograph of photo-reactor illuminated by LEDs.

2.3. 미세조류 배양 방법 및 농도 측정

*T. suecica*의 성장특성 연구는 배양기로 500 mL 용량의 코니칼 비이커를 사용하여 희석한 초기배양액을 접종하여 계획한 초기농도로 맞춘 후 파라필름을 이용해 비커의 입구를 막은 후 미세 구멍을 뚫어 주었다. 공기 공급 속도 따른 성장 속도를 비교하기 위하여 반응기의 바닥 부분에 산기석(porous stone)을 고정시켜 에어펌프를 조정하여 공급 속도를 조절하였다. 온도 조절은 실험실에 설치된 온도 조절장치를 이용하여 반응기의 온도를 21~23 °C로 일정하게 유지하였다. 배양액의 온도는 수온온도계를 이용하여 측정하였다.

세포의 성장은 Hemocytometer를 이용하여 광학현미경(AE2000, Motic, China)을 통해 직접 계수하였다. Cell counting은 일정량의 세포 부유 액을 눈금 안에 보이는 cell 수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당

세포 수(cells/ml)를 계산하는 방법이다. 균체 건조량과 세포농도와의 관계를 알기 위해서 균체 건조량(g/L)은 50 mL의 배양액을 0.45 μm 의 membrane filter로 여과한 후 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 건조한 후 무게차로 결정하였다. 그 결과, 균체 건조량 = $0.0000008 \times$ 세포농도 (상관관계 = 0.99)의 관계를 얻었다.

2.4. 최대 비증식 속도 계산

주어진 공기 공급 조건에서의 *T. suecica*의 최대 비증식속도 (specific growth rate)는 다음의 식으로 계산하였다.

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

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

3. 결과 및 고찰

3.1. 파장에 따른 성장 특성

Red, blue, white, mixed(적색1: 백색1: 청색1) 형태의 LEDs를 반응조 상단에 설치 후 배양을 실시하였다. 이 실험에서 각 파장별로 비증식속도는 0.72 day^{-1} (white), 0.58 day^{-1} (red), 0.49 day^{-1} (mixed), 0.49

day^{-1} (blue)의 순으로 감소하였다. 세포농도도 white에서 4.3×10^5 으로 가장 높았으며, 비증식속도의 경우 처럼 다른 파장일 경우 낮은 값을 보여주었다(Fig. 2). 위의 결과는 white 조명이 *T. suecica*의 배양에 가장 효과적이라는 것을 알려준다.

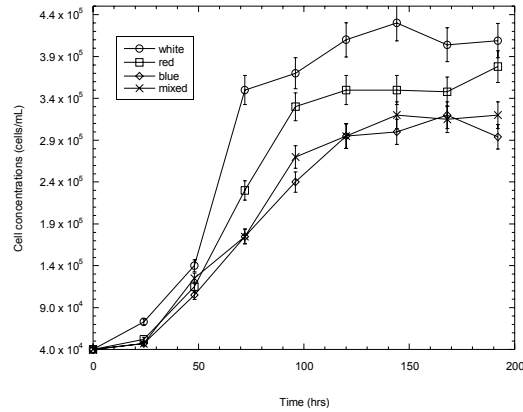


Fig. 2. Growth curves of *T. suecica* in a photo-reactor at different LEDs.

Table 2에 실험조건 및 결과가 정리되어 있으며, 투입전력이 60.0W로 동일하지만 white LEDs의 경우 가장 높은 7,000 lux의 값을 나타내어 미세조류 배양에 효과적임을 보여준다.

Table 2. Biomass production and specific growth rates of *T. suecica* with different colored LEDs and fluorescent lights and differing test conditions

Test Set	LEDs	Light	Intensity	Specific growth rate (day^{-1})	Initial cell concentration (cells/ml)	Maximum cell concentration (cells/ml)	Biomass (g/L) ^b
		Lux	$\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$				
1	White	7,000	101	0.56	4.0×10^4	4.3×10^5	0.34
	Red	1,800	72	0.53	4.0×10^4	3.8×10^5	0.29
	Blue	1,900	160	0.45	4.0×10^4	3.2×10^5	0.25
	Mixed (R1: W1: B1)	4000	110	0.48	4.0×10^4	3.2×10^5	0.25
2	White	3,000	52	0.62	4.0×10^4	4.8×10^5	0.38
	White	6,500	100	0.72	4.0×10^4	4.3×10^5	0.34
	White	9,000	145	0.84	4.0×10^4	5.0×10^5	0.40
3	Fluorescent Light	3,500	50	0.43	4.0×10^4	3.0×10^5	0.20
	Fluorescent Light	5,000	70	0.45	4.0×10^4	3.9×10^5	0.24
	Fluorescent Light	9,500	130	0.64	4.0×10^4	3.8×10^5	0.30
4	White + air ^a (1.2vvm)	9,000	145	0.84	4.0×10^4	1.6×10^6	1.28
	White + air (2.4 vvm)	8,000	130	0.77	4.0×10^4	1.9×10^6	1.54

^a CO_2 concentration in air is about 0.03%.

^b Biomass was measured when the cells grew to the plateau stage in culture.

3.2. 형광등 조명에서의 성장 특성

미세조류 배양에 일반적으로 사용되는 형광등을 이용하여 3개의 광도에 대해 *T. suecica*의 성장특성을 살펴보았다. 낮은 광도의 경우 비증식속도가 0.43 day^{-1} 로 가장 낮았으며, 최대 셀농도도 3.0×10^5 으로 가장 낮은 값을 보여주었다. 광도가 3,500 lux에서 9,500 lux로 증가함에 따라 비증식속도는 0.64 day^{-1} 과 최대 셀농도는 3.8×10^5 으로 증가하였다(Fig. 3). 비슷한 광도(9,000 lux)에서 실험한 white LEDs의 경우, 비증식속도는 0.84 day^{-1} 및 최대 셀농도는 5.0×10^5 로 형광등에 비해 각각 31.2% 및 31.6% 증가하였음을 알 수 있다.

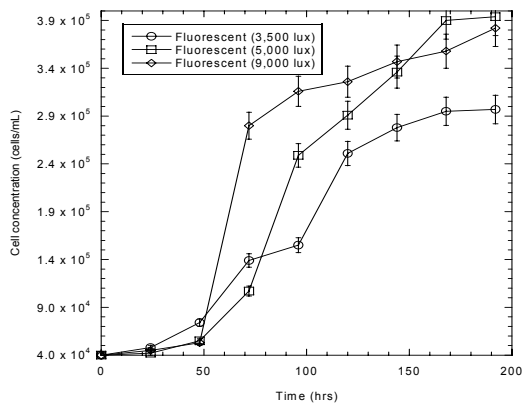


Fig. 3. Growth curves of *T. suecica* in a photo-reactor at different light intensity of Fluorescent lamp.

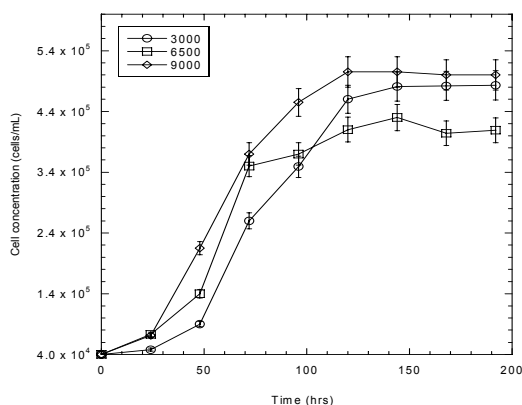


Fig. 4. Growth curves of *T. suecica* in a photo-reactor at different light intensity of light emitting diodes.

3.3. 광도에 따른 성장 특성

위의 결과를 통해 *T. suecica*의 배양에 가장 효과가 좋은 white LEDs를 이용하여 광도를 3,000, 6,500, 그리고 9,000 lux로 조절하여 배양 실험을 수행하였다. Fig. 4에 배양결과가 나타나 있다. 광도에 따라 비증식속도 및 최대 셀농도는 크게 차이가 나지 않았지만, 실험에 사용된 최대 광도인 9,000 lux에서 최대 비증식속도 및 최대 셀농도를 얻을 수 있었다.

3.4. 공기 공급에 따른 성장 특성

공기 공급이 미세조류의 성장에 미치는 영향은 Fig. 5에 나타나 있다. 3가지 실험 모두 9,000 lux 광도의 white LEDs 조명하에서 실험을 수행하였으며, 공기 공급 펌프를 이용하여 1.2 및 2.4 vvm의 속도로 공기를 공급하였다. 실험초기에는 배양속도의 차이가 크지 않았으나, 배양 후 100시간이 경과한 시점에서는 공기공급의 경우 미세조류가 급속히 성장함을 알 수 있었다. 위의 결과들로, 혼합(mixing)은 광생물반응기에서 매우 중요한 인자이며, 광합성의 유일한 탄소원인 공기 중에 포함된 이산화탄소의 공급, 그리고 공기 방울의 상승작용이 유체의 흐름과 수직 방향으로의 혼합을 유도해 미세조류 간의 그림자 효과를 줄임으로써 미세조류의 성장에 긍정적인 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

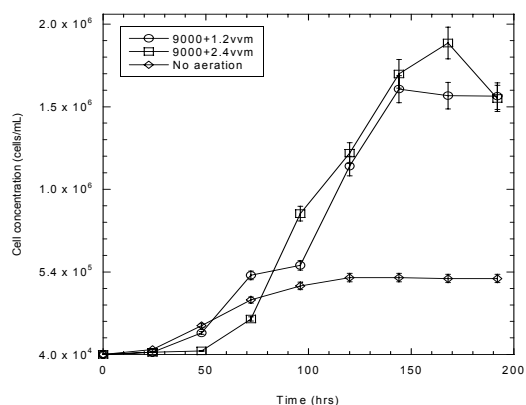


Fig. 5. Growth curves of *T. suecica* in a photo-reactor illuminated by 9,000 lux white LEDs at the different aeration conditions.

4. 결론

본 연구에서는 *T. suecica*을 효과적으로 배양하기 위한 광원을 선정하고자 다양한 파장의 LEDs와 혼합 형식의 LEDs를 이용하여 배양을 하였으며 연구의 결과는 다음과 같다.

- 1) 적색, 백색, 청색, 혼합(적색1: 백색1: 청색1) 형태의 LEDs를 이용한 배양 실험 결과 백색 LEDs에서의 성장속도가 가장 빠른 것으로 확인이 되었다.
- 2) 백색 LEDs 조명 조건에서 광량의 증가는 *T. suecica*의 증식속도 증가로 이어졌으며, 9,000 lux에서 최대 증식속도 및 최대 셀농도를 나타냈었다.
- 3) 형광등을 이용하여 배양한 경우에도 광도의 증가에 따라 비증식속도 및 셀농도가 증가하였으나, 비슷한 광도(9,000 lux)에서 실험한 white LEDs의 경우, 비증식속도는 0.84 day^{-1} 및 최대 셀농도는 5.0×10^5 로 형광등에 비해 각각 31.2% 및 31.6% 증가하였음을 알 수 있다. 따라서, 백색 LEDs가 기존 광원인 형광등에 비해 배양에 우수한 광원임을 알려준다.
- 4) 공기를 공급한 경우에는 공급하지 않은 실험에 비해 비증식속도의 경우 0.84 day^{-1} 로 동일하나, 최대 셀농도의 경우 4배정도 증가하였다. 이는 공기를 공급하면 반응기 내부의 그림자효과를 상쇄하여 반응기 외부에서 공급하는 광원이 내부의 셀에 충분히 공급이 되어 광합성이 촉진되기 때문이며, 아울러 이산화탄소의 공급이 촉진되어 광합성에 필요한 탄소원의 공급이 원활하였다고 판단된다.

감사의 글

이 연구는 지식경제부 산업원천기술개발사업(과제 번호: 10037416, 해양 LED 융합기술지원 기반구축 및 상용화 기술개발)으로 지원된 연구입니다.

참고 문헌

- Hamagata, N., Takeuchi, T., Fukuju, Y., Barnes, D. J., Karube, I., 1992, Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature, *Phytochem.*, 31(10), 3345-3348.
- Hamasaki, A., Shioji, N., Ikuta, Y., Hukuda, Y., Makita, T., Hirayama, K., Matuzaki, H., Tukamoto, T., Sasake, S., 1994, Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 45(1), 799-809.
- Joen, S. M., Kim, I. H., Ha, J. M., Lee, J. H., 2008, Overview of Technology for Fixation of Carbon Dioxide Using Microalgae, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, 19(2), 145-150.
- Karube, I., Takeuchi, T., Barnes, D. J., 1992, Biotechnological Reduction of CO₂ Emissions, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 46, 63-79.
- Kim, J., Joo, H., Lee, J., 2011, Spiruline NIES 39를 이용한 LED 광생물반응기에서의 이산화탄소 고정화와 광원 효과, *수산과학회지*, 22, 301-307.
- Kim, Y. S., Kim, J. S., Kim, S. S., 2008, Status and Prospect of Biodiesel as a Renewable Energy in Korea, *KIC News*, 11(3), 1-10.
- Laws, E. A., Berning, J. L., 1991, A study of the energetics and economics of microalgal mass culture with the marine chlorophyte *Tetraselmis suecica*: Implications for use of power plant stack gases, *Biotech. Bioeng.*, 37(10), 936-947.
- Radmer, R. J., 1996, Algal diversity and commercial algal products, *Bioscience*, 46(4), 263-270.
- Seo, Y. W., 2008, Recent Status and Prospect of Hydrogenated Biodiesel Production, *KIC News*, 11(3), 35-45.
- Shon, Y. H., Nam, K. S., Kim, M. K., 2004, Cancer chemopreventive potential of *Scenedesmus* cultured in medium based on swine wastewater, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 14(1), 158-161.
- Stauber, J. L., 1998, Toxicity of chlorate to marine microalgae, *Aquat. Toxicol.*, 41(3), 213-227.