



미세조류 *Scenedesmus dimorphus* 연속 대량배양 운전에 있어 광 조건이 성장에 미치는 영향

Effects of light condition in the continuous mass cultivation of microalgae *Scenedesmus dimorphus*

주성진·황현정·장산·황선진*

Sung-jin Joo·Hyeon-jeong Hwang·Shan Zhang·Sun-Jin Hwang*

경희대학교 환경공학과 및 환경연구센터

Department of Environmental Engineering and Center for Environmental Studies, Kyung Hee University

ABSTRACT

This study investigated the effects of the light conditions on the productivity of *scenedesmus dimorphus* in the continuous mass cultivation system. To compare the algal productivity according to the light conditions, *S. dimorphus* was cultivated continuously under the wide range of light intensity(200-600 PPFD) and various light wavelength(white light and red-blue mixed light). After 100 days of cultivation under the different light intensity, the productivity of *S. dimorphus* increased as light intensity decreased. So, the productivity was maximized as 100 mg/L/d when light intensity was 200 PPFD. In case of light wavelength, the productivity of *S. dimorphus* was enhanced about 20% with the white light compared to that of the red-blue mixed light. Consequently, the optimal light conditions for the continuous mass cultivation of *S. dimorphus* were 200 PPFD as light intensity and white light as light wavelength.

Key words: Microalgae, *Scenedesmus dimorphus*, Light intensity, Light wavelength, Photo-inhibition

주제어: 미세조류, 세네데스무스 디모르푸스, 광도, 광 파장, 광 저해

1. 서 론

미세조류는 일반적으로 광합성 대사를 통해 성장하는 단세포 미생물로써, 이산화탄소를 탄소원으로 이용하여 탄수화물, 지질, 단백질 등의 물질을 합성할 수 있는 식물 바이오매스 자원이다. 이러한 미세조류는 대량배양을 통해서 하폐수처리, 이산화탄소 고정, 바이오 연료 및 고부가가치 산물 생산 등 환경, 에너지, 화학 분야와 같은 다양한 측면으로 이용 가능하기 때문에 미래의 청정에너지 및 소재자원으로 주목받고 있다(Oh and Oh, 2013).

미세조류는 대사방식에 따라 독립영양(autotroph), 종

속영양(heterotroph) 및 혼합영양(mixotroph)으로 구분되며, 독립영양 미세조류는 광합성 대사를 진행하기 위해서 빛의 공급이 필수적이다. 이러한 빛 조건은 광도, 광 파장 및 광 주기로 구분하여 공급될 수 있으며, 종에 따라서 성장에 적합한 조건이 다른 것으로 보고되고 있다(Amini Khoeyi et al., 2012; Jacob-Lopes et al., 2009).

Patrick et al., (1996)에 의하면 일반적으로 미세조류를 배양하기 위한 광도는 1,000~10,000 Lux로 보고하였고, 광 주기가 길어질수록 미세조류의 성장속도와 최대 성장량이 증가하는 것으로 보고되고 있다. 또한, 광 파장이 미세조류의 대사에 미치는 영향에 대하여 연구된 바 있으며(Senger, 1984; John et al, 1953), 미세조류 *Chlamydomonas reinhardtii*는 red 파장에 비해서 blue 파장을 공급했을 때 세포의 크기가 더 크게

Received 31 March 2015; Revised 1 June 2015; Accepted 3 June 2015

*Corresponding author: Sun-Jin Hwang (E-mail: sjhwang@khu.ac.kr)

pp. 293-303
pp. 305-317
pp. 319-323
pp. 325-335
pp. 337-345
pp. 347-357
pp. 359-370
pp. 371-380
pp. 381-393
pp. 395-406
pp. 407-414
pp. 415-425
pp. 427-436

자라는 것으로 보고되었다(Oldenhof et al., 2006).

그러나 위와 같은 결과는 회분식 연구의 결과로, 미세조류의 배양 시 균일한 조건을 조성할 수 없고, 지속적으로 증가하는 미세조류 농도로 인한 self-shading effect에 대한 고려가 반영되지 않아 평가가 부정확할 수밖에 없다(Tang et al., 2012). 또한, 회분식 실험의 경우, SAP(soluble algal products)와 같은 by-products가 반응조 내에 축적되어 미세조류의 생산성을 감소시킬 수 있는 것으로 보고되어 이에 대한 영향도 고려하여야 하나, 이에 대한 고려가 여의치 않아 조류증식에 대한 정확한 평가는 다소의 문제점을 안고 있다고 할 수 있다(Biddanda and Benner, 1997; Hulatt and Thomas, 2010; MalinskyPushansky and Legrand, 1996; Liu et al., 2002; Livansky et al., 1996).

이에, 본 연구에서는 바이오-연료 추출을 위한 생물 자원으로 주목받고 있는 미세조류 중 *Scenedesmus dimorphus* 종의 대량배양을 위한 다양한 운전조건 중 광도와 광 파장이 생산성에 미치는 영향을 연속운전을 통해 평가하여 *S. dimorphus*의 배양에 적합한 광 조건을 도출하는 것을 목표로 연구를 진행하였다.

2. 연구방법

2.1 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 *S. dimorphus*로 KORDI (Korea Ocean Research & Development Institute)로부터 분양받았으며, 배양을 위해 사용한 배지는 Bold's Basal Medium(BBM)으로 조성은 Table. 1과 같다.

2.2 미세조류 배양

분양받은 미세조류는 Table. 1과 같이 조성된 BBM 배지와 혼합하여 0.2 OD(Optical Density)가 되도록 조정된 다음, 250 mL cell culture flask를 이용하여, 온도 $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, PPFD(Photosynthetic photon flux density) $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ 인 항온 광 배양기(Multi-thermo chamber, HB-305M)에서 20일간 계대배양을 실시하여 1.5 OD 까지 배양시킨 후 실험에 사용하였다.

2.3 연속운전 시스템 구성

*S. dimorphus*의 연속배양을 위한 실험 장치를 [Fig. 1]에

나타내었다. 부피 5 L의 원통형 반응기를 아크릴로 제작하였으며, 정량펌프(EMP-2000EN, Korea)를 이용하여 반응기 내에 BBM 배지를 700 mL/day 로 공급하였으며, 공급된 유량만큼 동시에 유출시켜 반응기의

Table 1. Composition of Bold's Basal medium

Bold's Basal Medium		
Ingredient	Concentration	Dosage
NaNO ₃	25 g/L	10 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7.5 g/L	10 ml
NaCl	2.5 g/L	10 ml
K ₂ HPO ₄	7.5 g/L	10 ml
KH ₂ PO ₄	17.5 g/L	10 ml
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2.5 g/L	10 ml
H ₃ BO ₃	11.4 g/L	1 ml
Trace		1 ml
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.82 g	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.44 g	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.57 g	
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.49 g	
MoO ₃	0.71 g	
EDTA-KOH solution		1 ml
EDTANa ₂	5.0 g	
KOH	3.1 g	
Distilled water	100 ml	
Fe solution		1 ml
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.98 g	
Conc. H ₂ SO ₄	1 ml	
Distilled water	1 L	
Distilled water		1 L

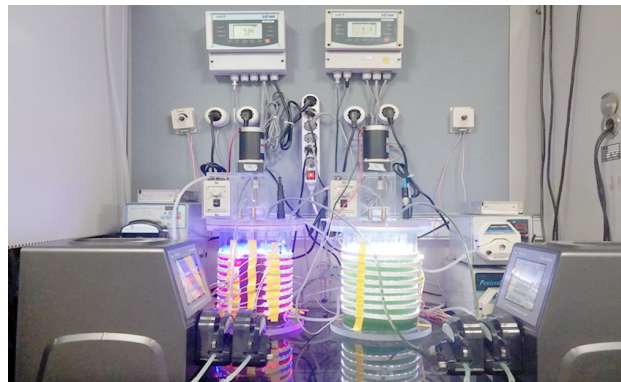


Fig. 1. Continuous photobioreactor (PBR) system for microalgae cultivation.



수위를 일정하게 유지시켰다. 반응기 내의 pH를 일정하게 유지하기 위해 pH-controller(Is-tek, Korea)를 이용하였으며, 광 조사를 위해서 flexible LED를 반응기 표면에 감는 방식으로 설치하였고, 광도는 LI-1400 Data-logger(LI-COR, USA)와 LI-193(LI-COR, USA) 센서를 이용하여 수중에서 측정하였다.

2.4 실험방법

광도에 따른 *S. dimorphus*의 생산성을 평가하기 위해 white 파장의 flexible LED를 이용하여 200~600 PPFD의 광도, 그리고 광 파장에 따른 생산성을 평가하기 위해 red 와 blue 파장을 혼합한 광 파장 조건 및 white 파장을 단독으로 조사하는 두 가지 광 파장 조건을 설정하였다. 희석률은 반응조 내의 미세조류 농도를 일정하게 유지하기 위해 Eq-(1)과 같이 공급 배지의 유속을 700 mL/day 조절하여 0.2 /d로 설정하였다 (Becker, 1994).

$$\text{Dilution ratio (/d)} = \frac{\text{medium flow rate (L/d)}}{\text{culture volume (L)}} \quad \text{Eq-(1)}$$

pH는 9.5 ± 0.5 , 온도는 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 로 유지시켰으며, 초기 미세조류의 접종량은 0.5 OD로 하였고, 미세조류의 광합성을 위한 무기탄소원 공급을 위해 공기를 0.5 VVM(Volume per Volume per Minute)으로 공급하였다.

2.5 미세조류 성장량 분석

미세조류의 성장량을 측정하기 위한 지표로서 OD와 dry weight를 측정하였다. OD는 채취한 시료를 충분히 흔들어 미세조류가 고르게 분포하도록 섞어준 다음 660 nm 파장에서 Spectrophotometer(Optizen POP, Mecasys Co., Ltd, Korea)를 사용하여 측정하였다. Dry weight는 채취한 시료를 충분히 혼합한 후, 미리 무게를 측정한 GF/C 여과지에 10 ml를 여과한 다음에 105~110 $^\circ\text{C}$ 오븐에서 2시간 이상 건조시켰다. 이후 건조가 끝난 여과지의 무게를 측정하여 건조 전후의 무게 차이를 측정하여 농도를 산출하였다(Andrew et al., 2005).

$$\text{Dry weight (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 1000, \text{mg}}{\text{sample volume, mL}} \quad \text{Eq-(2)}$$

여기서, A는 여과지의 무게 + 건조 후 미세조류의 무게, B는 여과지의 무게를 나타낸다.

3. 결과 및 고찰

3.1 광도에 따른 *S. dimorphus*의 성장량 변화

광도가 *S. dimorphus*의 성장량에 미치는 영향을 평가하기 위해, 광도를 200~600 PPFD 구간에서 단계적으로 증가시키면서 얻어진 성장량 관련 결과를 [Fig. 2]에 나타내었다. 200 PPFD 조건에서 평균 dry weight는 약 480 mg/L로 가장 높게 나타났으나, 광도가 400~600 PPFD로 증가함에 따라 평균 dry weight는 300~400 mg/L로 감소하는 경향을 나타냈다.

광도에 따른 *S. dimorphus*의 생산성 변화를 계산한 결과, [Fig. 3]에 나타난 바와 같이 200 PPFD 조건에서 약 100 mg/L/d로 가장 높게 계산되었고 이후 광도의 증가에 따라 *S. dimorphus*의 생산성은 약 60 mg/L/d까지 비례적으로 감소하는 것으로 나타났다.

미세조류는 일반적으로 광도가 광 포화점에 도달할 때까지는 광도가 증가할수록 비성장속도도 증가한다. 그러나 광 포화점 이상의 높은 수준의 광도가 조사될

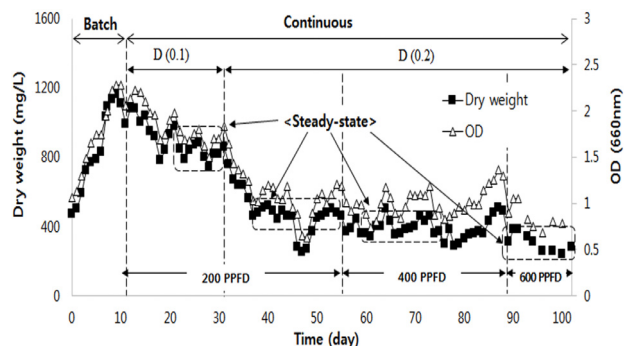


Fig. 2. *S. dimorphus* growth according to the light intensity and dilution ratio(D).

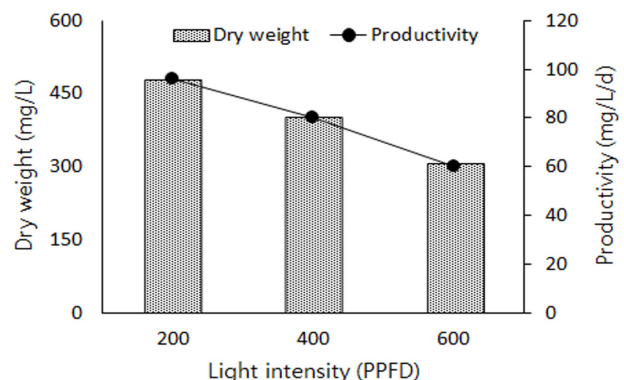


Fig. 3. Results of dry weight and productivity according to the light intensity.

경우에는 photo-inhibition 으로 인해 광계(photo-system I & II)가 손상을 받게 되며 (Choudhyry and Behera, 2001), 이로 인해 광합성률(photosynthesis rate)이 감소하여 비성장속도가 감소할 수 있다고 알려져 있다 (Leverenz et al., 1990; Long et al., 1994).

이상의 내용으로부터, 본 실험에서는 평균 dry weight가 가장 높았던 200 PPFD 조건을 광 포화점(photo-saturation point)으로 판단할 수 있으며, 광 포화점 보다 높은 400~600 PPFD 조건에서는 광 저해(photo-inhibition)로 인해 dry weight 및 생산성이 감소한 것으로 판단된다.

3.2 광 파장에 따른 *S. dimorphus*의 성장량 변화

광 파장에 따른 *S. dimorphus*의 성장량 변화를 [Fig. 4]에 OD와 dry weight로 나타냈다. OD의 경우에는 white 파장이 blue와 red 혼합파장에 비해서 다소 높게 나타났으나, dry weight 변화에서는 두 조건 모두 거의 유사한 경향을 나타냈다. 각 파장별 steady-state 구간을 10일~20일째라고 본다면, 이 구간에서의 평균 dry

weight는 white 파장에서 약 400 mg/L, blue와 red 혼합 파장에서 약 330 mg/L로 white 파장이 약 20 % 높은 성장량을 나타낸 것을 알 수 있다.

미세조류 배양에 공급되는 빛은 세포내 엽록체에서 광합성 반응에 의해 에너지로 전환된다. 녹조류의 경우, 엽록체 내에 주색소인 chlorophyll-a가 빛스펙트럼 중에서 red와 blue 파장을 수용하며, chlorophyll-b와 carotenoid와 같은 보조색소가 존재하여 red와 blue 파장 이외에 다른 파장대의 빛을 흡수하여 에너지로 전환할 수 있다(Falkowski and Raven, 2007).

본 연구에서는 blue와 red와 같은 단파장 보다 white light와 같은 혼합파장을 조사했기 때문에 보조색소에 의한 빛 에너지 전달률이 향상되어 white 파장의 성장량이 더 높게 나타난 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 미세조류 *S. dimorphus*의 배양을 위해 연속운전 시 광도와 광 파장에 따른 생산성 평가를 통해 대량배양을 위한 적절한 광 조건을 도출하기 위한 기초연구를 수행하였으며, 그 결과는 다음과 같이 요약될 수 있다.

광도를 200~600 PPFD 범위로 설정하여 *S. dimorphus*의 생산성을 평가한 결과, 본 연구에서는 200 PPFD 조건에서 100 mg/L/d로 성장률이 가장 높게 나타났으며, 200 PPFD 이상의 조건에서 광도가 증가할수록 광 저해로 인해 생산성이 차츰 감소하는 것으로 나타났다.

광 파장에 따른 생산성을 평가한 결과, 본 연구에서는 red light와 blue light 단파장을 조사한 조건에 비해 white light 인 혼합파장을 공급할 경우 생산성이 다소 높은 것으로 나타났다.

따라서, *S. dimorphus*의 대량배양을 위한 적정 광도는 광 조사에 대한 소비 전력량과 생산성을 고려했을 경우 200 PPFD, 광 파장은 white light가 본 연구에서는 가장 최적인 것으로 판단되며, photo-inhibition을 최소화하고 광 전달이 효율적으로 이루어질 수 있도록 PBR의 구조를 개선할 경우, 미세조류 성장량의 획기적인 증가를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2014년도 정부(미래창조과학부)의 재원

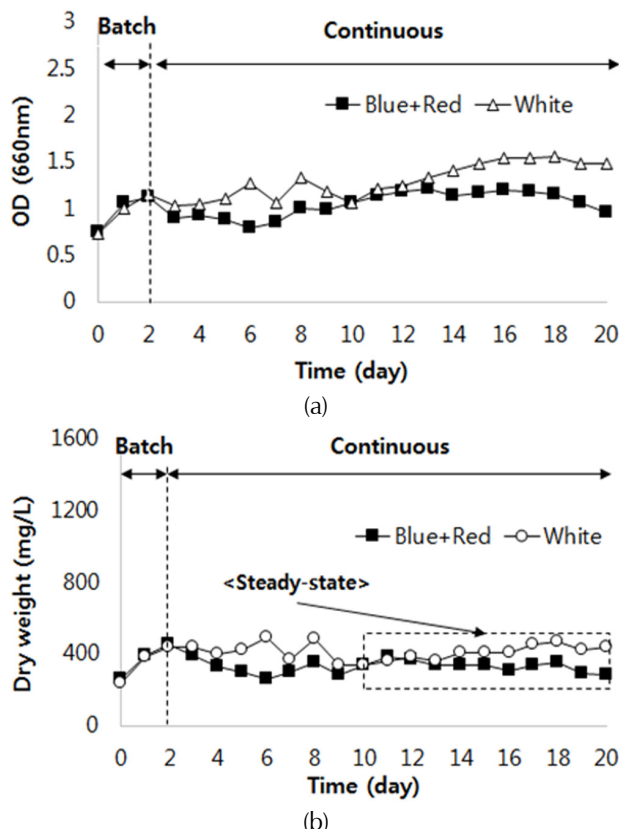


Fig. 4. Results of OD (A) and dry weight (B) according to the wavelength.



으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2013R1A2A2A03067619).

This work was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by the Korean Government (Basic Research Promotion Fund) (No. 2013R1A2A2A03067619).

References

- Ju Oh and Ju-Shin Oh. (2013) Future resource of microalgae, KSCE, 61(2), 85-90.
- Amini Khoeyi, Z., J.Seyfabadi and Z. Ramezanpour. (2012) Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*., Aquacult Int., 20, 41-49.
- Andrew D. Eaton. (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, Washington, D.C.
- Becker, E.W (1994) *Microalgae, Biotechnology and Microbiology*, Cambridge University, Cambridge.
- Biddanda, B., Benner, R. (1997) Carbon, nitrogen, and carbohydrate fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton, Limnol Oceanogr., 42, 506-518.
- Choudhury, N. K. and Behera, R. K. (2001) Photoinhibition of Photosynthesis : Role of carotenoids in photoprotection of chlroplast constituents, Photosynthetica., 39(4), 481-488.
- Falkowski, P. G., and J. A. Raven. (2007) *Aquatic photosynthesis, 2nd Ed.*, Princeton University, Princeton.
- Harriette Oldenhof, Vilém Zachleder, Herman Van Den Ende. (2006) Blue and red light regulation of the cell cycle in *chlamydomonas reinhardtii*, Eur. J. Phycol., 41(3), 313-320.
- Haiying Tang, Meng Chen, K. Y. Simon Ng, Steven O. Salley. (2012) Continuous microalgae cultivation in a photobioreactor, Biotechnol Bioeng, 109(10), 2468-2474.
- Hulatt, W.J., Thomas, D.N. (2010) Dissolved organic matter(DOM) in microalgal photobioreactors: a potential loss in solar energy conversion?, Bioresour. Technol., 101, 8690-8697.
- Jacob-Lopes, E., C.H.G. Scoparo. L.M.C.F. Lacerda and T.T. Franco. (2009) Effect of light cycles (night/day) on CO2 fixation and biomass production by microalgae in photo-bioreactors, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 48, 306-310.
- John, S. Burlew. (1953) *Algal culture from laboratory to pilot plant*, Carnegie institution, Washington D.C. pp. 204-232.
- Leverenz, J.W., Falk, S., Pilstrom, C. M. & Samuelsson, G. (1990) The effect of photoinhibition the Photosynthetic light-response curve of green plant cells(*chlamydomonas reinhardtii*), Planta, 182, 161-168.
- Long, S.P., Humphries, S. & Falkowski, G.P. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature, Annu. Re. Plant Physiol., Plant Mol. Biol., 45, 633-662
- Liu, J., Zhang, C., Zvi, C., Amos, R. (2002) Physiological inhibitory effect of OCS in arachidonic acid-rich *Parietochloris incisa* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), Chin. J. Oceanol. Limnol. 20, 248-255.
- Livansky, K., Dedic, K., Binova, J., Tichy, V., Novotny,P., Doucha, J. (1996) Influence of the nutrient solution recycling on the productivity of *Scenedesmus obliquus*, utilization of nutrients and water in outdoor culture, Arch. Hydrobiol. 114, 105-113.
- MalinskyRushansky, N.Z., Legrand, C. (1996) Excretion of dissolved organic carbon by phytoplankton of different sizes and subsequent bacterial uptake, mar. Ecol. Prog. Ser. 132, 249-255.
- Patrick. L. and Patrick. S. (1996) *Manual on the production and use of live food for aquaculture*, FAO, Belgium.
- Senger, H. (1984), *Blue light Effects in biological systems*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 283-301
- Tamiyam H., Hase, E., Shibata, K., Mituya, A., Iwamura, T., Nihei, T. and Sasa, T., (1953) Kinetics of growth of chlorella, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature, Algal culture from laboratory to pilot plant, 204.

pp. 293-303

pp. 305-317

pp. 319-323

pp. 325-335

pp. 337-345

pp. 347-357

pp. 359-370

pp. 371-380

pp. 381-393

pp. 395-406

pp. 407-414

pp. 415-425

pp. 427-436