

빛 이용효율 향상을 위한 광생물반응기 설계 기준에 관한 연구

류 현 진 · ¹이 진 석 · † 오 경 근
단국대학교 공업화학과, ¹한국에너지기술연구원 바이오매스연구센터
(접수 : 2004. 4. 3., 게재승인 : 2004. 8. 26.)

A Study on the Design Criteria of Photobioreactor for the Efficiency of Light-Utilization

Hyun Jin Ryu, Jin-Suk Lee¹, and Kyeong Keun Oh†

Department of Industrial Chemistry, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

¹Biomass Research Center, Korea Institute of Energy Research, Taejeon 305-343, Korea

(Received : 2004. 4. 3., Accepted : 2004. 8. 26.)

Recently, there is a growing interest in microalgae and the use of microalgae focused on the production of various high value metabolite used in food, pharmaceuticals and cosmetics. The key limiting factor in high density algal cultivation is the light and algal growth is defined by light intensity and light penetration depth into the culture medium. The effect of light with various light paths, S/V ratios, light intensities, and 50% duty cycle on the growth of microalgae was examined to enhance microalgal biomass productivity and photosynthetic efficiency. We confirmed that the utilization of efficient light energy was obtained from 4 cm of diameter, 57.6% of S/V ratio, 62 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ of light intensity .

Key Words : Microalgae, light, biomass productivity, photosynthetic efficiency

서 론

최근 석유나 석탄과 같은 화석연료의 사용량이 증가함에 따라 대기 중의 이산화탄소 농도가 지속적으로 증가하고 있으며 이러한 현상은 지구온난화의 원인이 되고 있다(1). 대기 중의 이산화탄소 제거를 위한 여러 가지 방법 중 하나로서 *Chlorella*나 *Synechocystic* sp.와 같은 미세조류의 광합성 기능을 이용한 생물학적 이산화탄소 고정화 방법을 들 수 있는데 (2), 이 방법은 다음과 같은 몇 가지의 장점을 지닌다. 첫째, 이 방법은 이산화탄소의 분리, 정제 등의 전 처리 공정이 필요하지 않으며 연소가스로부터 직접 이산화탄소의 회수가 가능하다. 둘째, 반응조건이 상온, 상압이어서 에너지 소모량이 낮아 이산화탄소 고정화 공정의 운전에 따른 이산화탄소 발생량이 극히 작으므로 이산화탄소 수지 측면에서 제거 효율이 높다. 셋째, 식물성 플랑크톤인 미세조류는 다른 바이오매스에 비해 매우 높은 이산화탄소 고정화 속도를 지닌다. 동경 전력중앙연구소의 연구결과(3)에 따르면 미세조류의 이산화탄소 고정화속도는 식물 중 가장 빨리 자라는 사탕수수

비해 2.8배, 우리나라의 가장 흔한 수종인 소나무에 비해서는 무려 15배 이상 높은 것으로 나타났다.

미세조류는 이산화탄소를 고정화하여 불포화 지방산이나 카로티노이드와 같은 고부가가치의 유용물질을 생산해내며 (4), 이 들 유용물질은 식품이나 제약, 화장품 등 여러 분야에 이용되고 있다(5). 최근에는 *Chlorella* sp.의 대량배양에 성공함으로써 건강보조식품으로 널리 상품화시켰으며 UN식량농업기구에서는 *Chlorella* sp.를 인류의 미래 식품으로 지정하여 대량배양을 권장하고 있어 미세조류에 대한 생물공학 적 관심은 계속 증가하고 있는 추세이다.

미세조류의 광생물적 반응을 위해서는 광생물반응기 (Photobioreactor, PBR)가 이용되어지게 되는데, 고농도의 미세조류 배양을 위한 효율적인 광생물반응기의 설계를 위해서는 빛이나 기체 (이산화탄소, 산소)전달, 배지성분의 유지, 불필요한 이차대사물질의 축적이나 상호간섭 등의 생물적, 공간적 제한 요소들이 중요한 요건이 된다(6). 이 중 빛은 광생물반응기의 효율성을 높이기 위한 핵심적 요인이다(7-9). 빛 에너지는 파장과 강도의 두 가지 성질로 분류되어질 수 있는데, 이는 미세조류의 성장과 대사과정에 중요한 역할을 한다. 빛의 파장은 광합성 효율을 결정하며 배양액 안으로의 빛의 분배와 산재 정도에 따라 차이를 보이게 된다(10). 그러므로 클로로필과 부가색소에 알맞은 스펙트럼의 파장이 결정된다 하더라도 광원으로부터 방출된 광자가 고르게 반응기 표면에

† Corresponding Author : Department of Industrial Chemistry,
Dankook University, Cheonan 330-714, Korea
Tel : +82-41-550-3558, Fax : +82-41-554-4769
E-mail : kkoh@dankook.ac.kr

도달하고 배양액 안으로 깊이 침투될 수 있는가는 미세조류의 성장에 매우 중요한 변수로 작용한다. 빛 에너지의 또 다른 성질인 빛의 강도 또한 광합성 효율과 균체의 성장에 영향을 미치게 되는데 빛의 강도가 너무 낮으면 광합성에 필요한 광자를 세포에 모두 공급하지 못하여 균체의 성장을 저해하게 되고, 빛의 강도가 너무 높으면 광산화반응을 자극시켜 광합성을 부분적으로 차감, 세포에 손상을 일으키므로 성장률이 감소하게 된다(11).

따라서 본 연구에서는 수직 관형 광생물반응기 시스템을 설계하여 빛의 투과경로와 반응기의 면적/부피 비율 (단위부피 당 조사면적), 조도와 단계적 조사에 따른 균체의 성장률과 광합성 효율 등을 비교, 조사하여 각각의 변수를 미세조류의 한 종인 *Chlorella sp.* 성장에 적용시켰을 때 어떠한 영향을 미치는지 알아보았으며, *Chlorella sp.*로 하여금 이산화탄소 기질 이용률을 높이고, 유용물질 (바이오매스 또는 이차대사물 등)의 생산성을 극대화할 수 있도록 빛 에너지의 효율적 이용을 최대화하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 연구에 이용된 균주인 *Chlorella sp.*는 한국생명공학연구원원의 유전자원센터 (Korean Collection for Type Cultures)로부터 분양받았으며 사용 배지는 Allen 배지로서 조성은 Table 1에 나타내었다. 배지는 고압멸균기 (Sangwoo Inc., Korea)에서 121°C, 15분간 멸균 후 사용하였다.

Table 1. Allen medium composition

Chemical	M.W	Stock (g/0.5 L)	Dilut (mL/L)	Conc. (g/L)
NaNO ₃	85.01	75	10	1.5
KH ₂ PO ₄	174.18	1.95	10	0.039
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246.48	3.75	10	0.075
Na ₂ CO ₃	106	1.06	10	0.021
CaCl ₂	110.99	1.35	10	0.027
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	284.2	2.9	10	0.058
Ferric citrate	244.95	0.3	10	0.006
Citric acid	192.12	0.3	10	0.006
EDTA	292.24	0.05	10	0.001
Micronutrient				/1000 mL D.W.
H ₃ BO ₃	61.84	2.86		
MnCl ₂ ·4H ₂ O	197.91	1.81		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	287.54	0.222		
Na ₂ MoO ₄ ·7H ₂ O	241.95	0.391		
CuSO ₄ ·5H ₂ O	249.68	0.079		
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	291.04	0.0494		

광생물반응기의 제작

빛의 영향에 따른 *Chlorella sp.*의 성장 정도를 비교하기 위한 광생물반응기 시험 시스템을 구축하였다. 반응기 시험 시스템의 구성요소는 다음과 같았다. 광원으로는 9개의 형광등 (18 W, FL20SD, Woori, Korea)을 이용하였으며, 스위치를 연결하여 조도 조절이 가능하도록 하였다. 온도조절은 별도로 수행하지는 않았으며 온도계를 이용하여 배양온도를 측정

하였다. 이산화탄소와 공기가 일정 비율로 혼합되어 있는 표준 가스를 가스유량계 (RMA-11-SSV, Dwyer Instruments, INC., USA)를 이용하여 광생물반응기에 공급하였다. 반응기 (운전용량 500 mL)의 형태는 직경이 4, 6, 8 cm, 높이가 46, 25, 16 cm로 각각 제작하였으며 반응기의 재질은 유리 (Pyrexglass)로 제작하였다. 공기 주입시의 박테리아 등의 오염을 막기 위해서 유량계와 반응기를 연결시켜주는 실리콘 튜브에는 0.2 µm 필터를 장착하였으며, 스파저 (기공 크기: 40-50 µm)를 반응기 바닥 부분에 고정시켜 배양액이 혼합되도록 설치하였다. 반응기 시험 시스템의 공정도는 Fig. 1에 나타내었으며 Fig. 2는 설치된 광생물반응기의 사진을 나타낸 것이다.

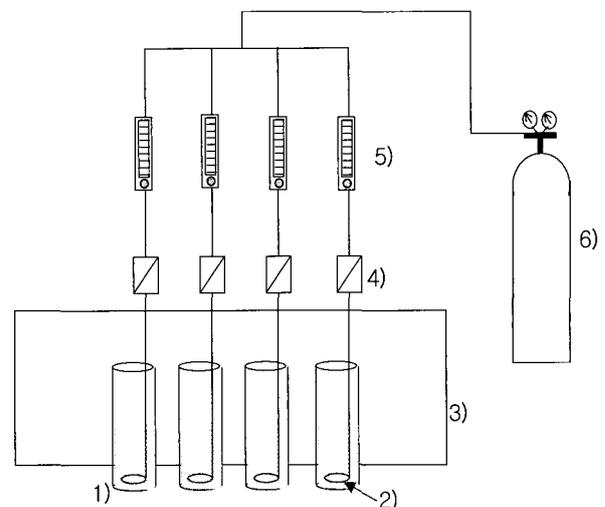


Figure 1. Schematic diagram for the photobioreactor (1) photobioreactors, (2) sparger, (3) fluorescent lamp, (4) membrane filter, (5) flow meter, (6) air (with 5% CO₂) cylinder.

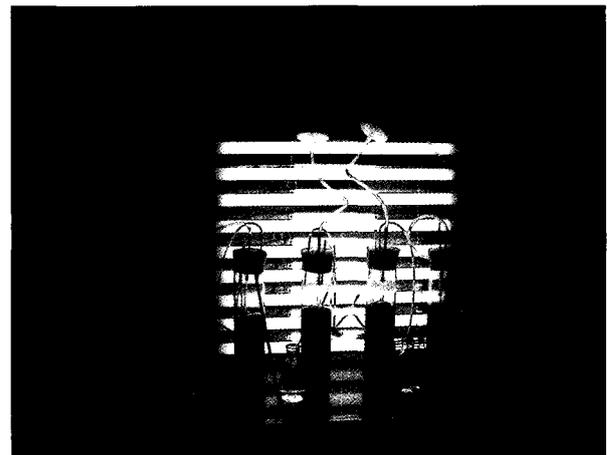


Figure 2. A photograph of vertical tubular photobioreactors.

전배양

50 mL의 Allen 배지가 함유된 250 mL 용량의 삼각플라스크에 고형배지에서 보존중인 균주를 백금이로 접종하여 조사 진탕배양기 (VS8480SF, Vision Science Co., LTD., Korea)에서 20°C, 110 rpm으로 14일 동안 진탕배양 하였다. 이산화탄

소는 따로 공급하지 않았으며 빛의 조도량은 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였다. 배양액은 100 mL의 Allen배지에 5 mL을 옮겨 접종하여 상동 조건으로 배양하였다.

본배양

광생물반응기에서의 배양은 500 mL의 Allen배지에 전배양에서 성장시킨 *Chlorella* sp. 배양액을 5% (v/v) 접종하였으며, Allen배지의 초기 pH는 7.18이었다. 빛의 평균조도는 약 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였으며, 가스 (5% CO_2 표준가스)의 가스흐름속도는 0.2 vvm으로 조절하였다. 초기의 세포농도는 0.01 g/L였으며 온도와 pH는 따로 조절하지 않았다.

조도측정

반응기 표면에서의 빛의 조도는 조도계 (LI-250, LI-COR Inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 반응기 안의 평균 빛의 조도는 정확하게 측정되어질 수 없었기 때문에 반응기 내부에서 30부분의 위치를 선정하여 각각 조도를 측정하였으며, 이들의 위치는 반응기의 수직 축을 따라 균등하게 위치한 5개의 수직면과 그 수직면에 각각 포함된 반지름 축을 따른 6개의 점이었다. 평균 빛의 조도는 모든 측정값의 가중평균에 의해 계산되었다(4).

미세조류 농도측정

미세조류 농도는 분광광도계 (SPI90DU, YoungWoo Inc., Korea)를 사용하여 660 nm에서 측정하였다(2). 균체 건조량은 6일 동안 성장시킨 배양액을 원심분리기 (CMF80, Hanil Science Industrial, Korea)를 이용, 4000 rpm에서 15분 동안 원심분리 후 증류수로 세척하여 재 원심 분리한 농축액을 80°C에서 24시간 건조하여 측정하였다. 균체 건조량과 흡광도에서, 균체 건조량 = 0.2088 × 흡광도 - 0.0094 (상관계수 = 0.9956)의 관계를 얻었다.

세포내의 열량측정

균체의 열량을 측정하기 위해서, 6일 동안 성장시킨 *Chlorella* sp. 배양액을 원심분리기 (CMF80, Hanil Science Industrial, Korea)를 이용, 4000 rpm에서 15분 동안 원심분리 후 증류수로 세척하여 재 원심 분리한 농축액을 80°C에서 24시간 건조시켰다. 건조시킨 균은 봄 칼로리미터 (PARR 1281, PARR Instrument Company, USA)를 이용하여 균의 건조중량당 열량을 측정하였으며, 그 값은 22.82 KJ/ 1 g dry cell이었다.

결과 및 고찰

빛의 투과경로 영향

반응기의 직경을 4, 6, 8 cm로 달리하여 빛의 투과경로가 *Chlorella* sp.의 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

Fig. 3은 다양한 직경의 광생물반응기 사진을 나타낸 것이며 Fig. 4는 반응기 직경에 따른 *Chlorella* sp.의 성장곡선을 나타낸 그림이다. *Chlorella* sp.의 성장 초기 48시간까지는 빛의 투과경로가 균체에 미치는 영향을 볼 수 없었으나, 48시간 이후 작은 직경의 반응기에서 성장속도가 향상되는 것을

알 수 있었다. 반응기 내 미세조류 농도가 높아지면 균체에 의한 그림자 효과에 의해 빛이 반응기 내부 깊숙이 침투하는 것을 방해하기 때문에 넓은 직경의 반응기에서의 *Chlorella* sp.는 성장이 제한되어진 것으로 사료된다. 또한 단위부피에서 반응기의 직경이 작아지면 배양액의 준위가 높아지게 되므로 투입된 가스의 배양액 내의 체류시간이 길어져 CO_2 가스의 물질전달 능력이 향상되는 것으로 사료된다.

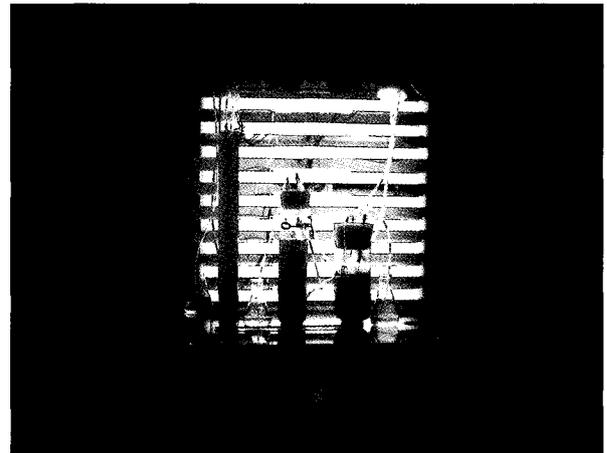


Figure 3. A photograph of vertical tubular photobioreactor with various dimentions.

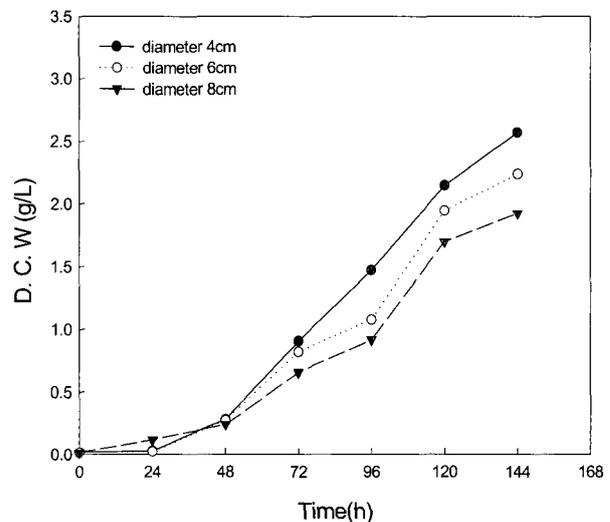


Figure 4. Growth of *Chlorella* sp. under various light paths.

단위부피 당 조사면적의 영향

광생물반응기의 Surface-to-Volume ratio (배양액부피에 대한 빛을 받은 반응기의 표면적 비율)는 단위 부피당 반응기 시스템 안으로 들어가는 빛의 양을 결정하게 되며 이는 균체의 농도변화에 영향을 미치게 된다(12).

반응기의 면적/부피 비율의 영향을 비교하기 위해서 4, 6, 8 cm 직경의 반응기를 이용하였으며 빛을 받은 면적을 정확히 계산하고 사광의 영향을 줄이기 위해 반응기 면적의 1/2에 검은색 천을 이용하여 빛을 차단하였다.

Fig. 5는 반응기의 면적/부피 비율에 따른 *Chlorella* sp.의 균체농도를 나타낸 것이며 Table 2는 각각의 면적/부피 비율을 가진 반응기에서의 *Chlorella* sp.의 광합성효율을 나타낸 것이다. 광합성 효율은 식 (1)에 따라 계산되었다(13).

$$\text{Photosynthetic efficiency} = \frac{\text{Recovered energy as biomass}}{\text{Received light energy}} \times 100 \quad (1)$$

Where, Received light energy(PAR) into the reactor
 = 100 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}(\text{PAR}) \times \text{illuminated photostage surface} \div 4.6$
 4.6 = Conversion factor from $\text{W/m}^2(\text{PAR})$ to $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}(\text{PAR})$

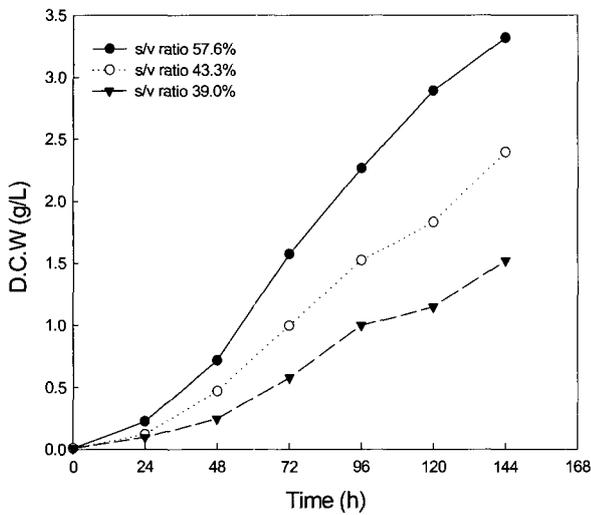


Figure 5. Growth of *Chlorella* sp. under various s/v ratios.

Fig. 5에서 볼 수 있듯이, 면적/부피 비율이 높아질수록 *Chlorella* sp. 균체의 농도 또한 높아져, 높은 면적/부피 비율에서는 높은 균체농도와 높은 생산성을 얻을 수 있었으며, 광합성효율 또한 면적/부피 비율 57.6%인 직경 4 cm의 반응

기에서 가장 큰 값을 가져, 광합성효율 측면에서도 반응기의 직경이 작을수록 높은 효율을 보이는 것으로 나타났다.

위의 결과들로, 높은 면적/부피 비율은 광생물반응기의 설계에 있어 매우 중요한 인자이며, 균체농도를 상승시키는데 긍정적인 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 면적/부피 비율은 미생물이 성장되어지는 정도나 혼합의 타입, 그리고 다른 특별한 조건들에 의존하므로 대규모의 광생물반응기를 위한 최적의 면적/부피 비율을 고정시키는 것은 불가능하지만(12), 실험실 규모에서는 4 cm 직경의 반응기가 균체의 성장에 필요한 빛 에너지를 효율적으로 이용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

조도 영향

Chlorella sp. 배양에 대한 조도의 영향을 관찰하기 위해 4 가지 다른 값의 조도를 이용하였다. 가장 높은 조도는 기존의 광원에 27 W의 보조광원을 추가 이용하여 제공되었으며 낮은 조도 값은 다른 크기의 검은 천을 이용하여 광원으로부터 빛을 차단하여 조절되어졌다. Fig. 6은 제공되어진 각각의 조도에 따른 *Chlorella* sp.의 성장곡선을 나타낸 것이다. 조도의 값이 증가함에 따라서 높은 성장률이 관찰되었으며, 낮은 조도에서는 빛이 제한되어져 낮은 균체농도를 얻었다. 본 실험에서는 태양광과 같은 매우 높은 수치의 조도 실험은 수행하지 못하여 빛의 포화상태에서의 균체의 성장 정도를 비교할 수는 없었으나, 조도에 따라서 균체의 배양이 제한될 수 있음을 확인할 수 있었다.

Table 3은 각각의 조도에서의 광합성 효율을 나타낸 것이다. 광합성 효율은 앞에 기술되어진 식 1을 이용하여 계산하였다. Table 3에서 볼 수 있듯이, 조도가 증가함에 따라 성장 속도 또한 증가하였으나 광합성 효율은 62 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 26.4%로 가장 높아 조도가 높은 값을 가진다 하더라도 조도량에 비례하여 빛의 이용 효율이 높아지는 것이 아님을 알 수 있었다. 또한 실외에서 광합성미생물 배양이 수행될 경우, 자연광인 태양광을 광원으로 이용하기 때문에 에너지 차원에서 큰 문제는 없으나, 실내에서 균체의 배양이 수행된 경우

Table 2. Maximum growth yield and photosynthetic efficiency of *Chlorella* sp. under various S/V ratios

S/V ratio (%)	24hr, Maximum growth rate (gD.W/reactor/24hr)	Enthalpy of dry biomass (KJ/g D.W)	24hr, Maximum energy recovery (KJ/reactor/24hr)	Input of PAR (KJ/reactor/24hr)	Photosynthetic efficiency (%)
57.6	0.429	22.82	9.79	54.09	18.1
43.3	0.284	22.82	6.48	40.66	15.9
39	0.210	22.82	4.80	36.62	13.1

Table 3. Maximum growth yield and photosynthetic efficiency of *Chlorella* sp. under various light intensities

Light intensity ($\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$)	24hr, Maximum growth rate (gD.W/reactor/24hr)	Enthalpy of dry biomass (KJ/g D.W)	24hr, Maximum energy recovery (KJ/reactor/24hr)	Input of PAR (KJ/reactor/24hr)	Photosynthetic efficiency (%)
46	0.119	22.82	2.72	18.70	14.5
62	0.292	22.82	6.65	25.23	26.4
97	0.444	22.82	10.1	39.48	25.6
121	0.499	22.82	11.4	49.25	23.1

에는 빛 에너지 투입에 비용이 소모되어지므로 경제적 측면에서도 높은 조도가 높은 효율성을 가지는 것이 아님을 알 수 있었다.

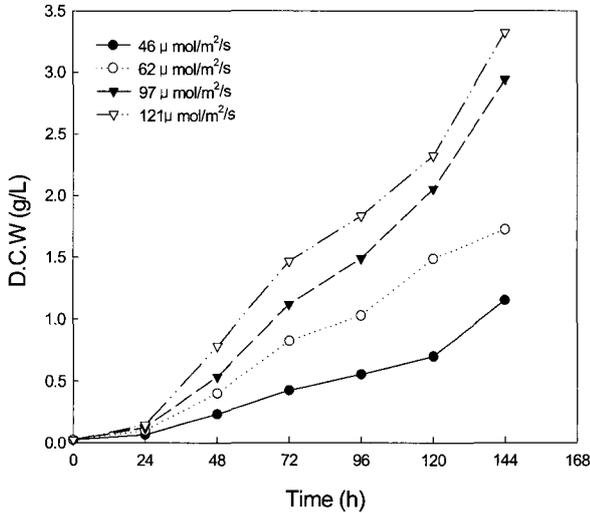


Figure 6. Growth of *Chlorella* sp. under various light intensities.

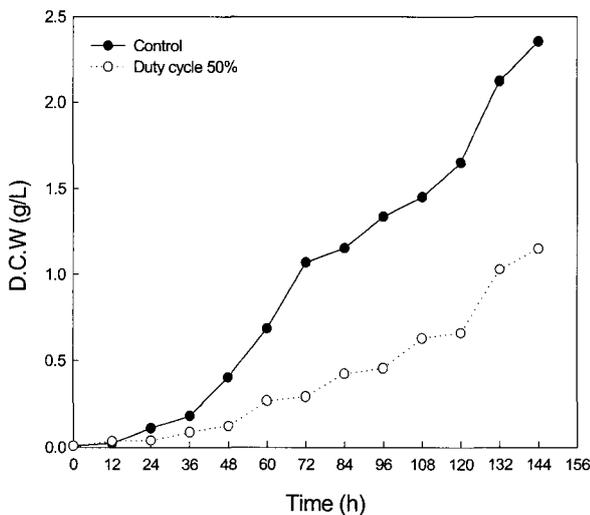


Figure 7. Growth of *Chlorella* sp. under 50% duty cycle.

단계적 조사 영향

Chlorella sp.를 실외에서 배양할 때의 조건과 유사한 조건에서 배양하여 성장곡선이 어떻게 변화하는지를 알아보았다. 비록 광원이 제한되어 있어 높은 조도를 이용하지는 못하였지만 실외에서와 같은 명-암 주기를 주어 균체의 성장에 미치는 영향을 알아보았다.

Fig. 7은 지속적으로 빛을 공급하였을 때와 12시간 간격으로 명-암 영역을 변화시켰을 때의 균체의 성장을 비교한 그림이다. 일정하게 빛을 공급하였을 때에는 균체의 농도가 계속 증가하였으나 명-암 주기를 주어 빛을 공급한 경우에는 암주기에 균체의 농도가 매우 적은 양만이 증가하는 것을 볼

수 있었으며, 이는 세포의 호흡작용으로 인해 저장해놓은 CO₂를 방출하고 O₂를 소비하기 때문으로 추측할 수 있었다. 본 실험에서는 균체에 암 영역을 줌으로써 전체적인 균체농도와 생산성이 감소하였으나, 실외에서 균체의 성장 경향을 알아보기 위한 목적에는 잘 부합되었다고 사료된다.

요약

최근, 미세조류에 대한 생물공학적인 관심이 급격히 증가하고 있으며 이의 응용범위는 식품이나 제약, 화장품 등 다양한 구도로 확장되어지고 있다. 고농도의 미세조류 배양을 위해서는 빛이 핵심적 제한요소로 작용되어지며 빛의 투과 깊이나 강도에 따라 균체의 성장속도가 결정되어지게 된다. 본 연구에서는 다양한 빛의 투과경로와 빛을 받는 면적/배양액의 부피 비율, 조도 그리고 단계적 조사에 따른 *Chlorella* sp.의 성장률을 조사하여 빛이 미세조류에 미치는 영향을 알아보았으며, 본 연구에 적용된 값들 중 4 cm의 직경, 57.6%의 면적/부피 비율, 62 μmol/m²/s의 조도에서 *Chlorella* sp. 성장에 필요한 빛 에너지를 가장 효율적으로 이용함을 확인할 수 있었다.

감사

본 연구는 2003학년도 이산화탄소 저감 및 처리기술개발사업단 연구비의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Nobuhiro, R. H., L. Tatsuya, P. Yuwadee, I. Yasuo, and K. Tohru (1995), Effect of carbon dioxide concentration on the growth and RubisCO activity of a thermophilic cyanobacterium, *Chroococcidiopsis* sp. strain TS-821¹, *J. Ferment. Bioeng.* **80**, 507-509.
2. Sung, K. D., J. S. Lee, C. S. Shin, S. C. Park, and M. J. Choi (1999), CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics, *Biosource Technol.* **68**, 269-273.
3. Tokyo Electric Company (1994), R&D Report of Global Environment Department.
4. Li, J., N. S. Xu, and W. W. Su (2003), Online estimation of stirred-tank microalgal photobioreactor cultures based on dissolved oxygen measurement, *Biochemical Engineering J.* **14**, 51-65.
5. Pulz, O (2001), Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **57**, 287-293.
6. Lee, C. G (1999), Calculation of light penetration depth in photobioreactor, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **4**, 78-81.
7. Cornet, J. F., C. G. Dussap, P. Cluzel, and G. Dubertret (1992), A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: II. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations, *Biotechnol. Bioeng.* **38**, 826-834.
8. Evers, E. G (1991), A model for light-limited continuous cultures: Growth, shading, and maintenance, *Biotechnol. Bioeng.* **38**, 254-259.
9. Park, K. H., D. I. Kim, and C. G. Lee (2000), Effect of flashing light on oxygen production rates in high-density algal cultures, *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 817-822.
10. Rabinowitch, E. (1961), Medical and Biological Aspects of the Energies of Space, In: P. A. Cambell, ed., p274-298, Columbia

University Press, New York.

11. Thacker, D. R. and H. Bobcock (1957), The mass culture of algae, *J. Sol. Energy Science Eng.* **1**, 37-49.
12. Michael, C. F. and W. D. Stephen (1999), Bioprocess Technology: fermentation, biocatalysis, bioseparation, p395-419, John willy & Sons, Inc.
13. Watanabe, Y. and O. H. David (1995), Photosynthetic CO₂ fixation technologies using a helical tubular bioreactor incorporating the filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Energy Convers. Mgmt.* **36**, 721-724.