

온도, 광세기 및 pH에 따른 *Chlorella Vulgaris* 증식률

Effect of Temperature, Light Intensity and pH on the Growth Rate of *Chlorella Vulgaris*

최희정 · 이승목[†]

Hee-Jeong Choi · Seung-Mok Lee[†]

관동대학교 보건환경학과

Department of Environmental Engineering, Kwandong University

(2011년 7월 7일 접수, 2011년 7월 26일 채택)

Abstract : The aim of this study was to investigate the efficiency of temperature, light intensity and pH on the growth rate of *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*). The size of *C. vulgaris* (FC-16) was 3-8 μm , having round in shape. The cells of *C. vulgaris* (FC-16) was cultured in the Jaworski's Medium with deionized water. To evaluate the efficiency of temperature, light intensity and pH on the growth rate of *C. vulgaris*, six different fractions of temperature (10 $^{\circ}\text{C}$, 15 $^{\circ}\text{C}$, 20 $^{\circ}\text{C}$, 25 $^{\circ}\text{C}$, 30 $^{\circ}\text{C}$, 35 $^{\circ}\text{C}$), various light intensities (100-800 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) and seven different fractions of pH (3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 9) were prepared. The growth rate of *C. vulgaris* cultivation was approximately 5.2 to 5.5 times faster, the concentration of Chlorophyll a was also 5 to 5.5 times higher, and cell volume per unit area was 14% higher at 25 $^{\circ}\text{C}$ to 30 $^{\circ}\text{C}$ than those at 10 $^{\circ}\text{C}$. Therefore, the optimal temperature for cultivation of *C. vulgaris* was estimated 25 $^{\circ}\text{C}$ to 30 $^{\circ}\text{C}$. The growth rate of *C. vulgaris* increased slowly up to 5 days, exploded after 5 days until 15 days, and then stopped after that. The optimum cultivation period of *C. vulgaris* was estimated as 15 days. The optimum pH for the growth rate of *C. vulgaris* was determined pH 7 to 7.5.

Key Words : *Chlorella vulgaris*, Chlorophyll, Cultivation, Light Intensity

요약 : 본 연구는 온도, 광세기 및 pH가 *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*)의 증식률에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 각 조건에서의 효율을 평가하기 위하여 *C. vulgaris* (FC-16) (3~8 μm)를 Jaworski's Medium에 증식시킨 뒤, 다양한 온도(10 $^{\circ}\text{C}$, 15 $^{\circ}\text{C}$, 20 $^{\circ}\text{C}$, 25 $^{\circ}\text{C}$, 30 $^{\circ}\text{C}$, 35 $^{\circ}\text{C}$)와 다양한 광세기(100~800 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) 및 다양한 pH (3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 9) 조건에서 실험하였다. 실험결과, 25~30 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서는 10 $^{\circ}\text{C}$ 조건과 비교 시 같은 양의 *C. vulgaris*를 증식하는데 걸리는 시간은 약 5.2~5.5배 빨랐고, Chlorophyll a는 5~5.5배 높았으며, 단위 면적당 cell volume은 14% 이상 높아 *C. vulgaris* 최적 배양온도는 25~30 $^{\circ}\text{C}$ 로 조사되었다. *C. vulgaris* 배양기간의 경우, 증식속도가 5일까지는 느리게 증가했지만, 6일 이후부터 15일까지는 폭발적으로 증가했고, 15일 이후에는 거의 증식이 멈춰 15일 이내가 적당한 것을 알 수 있었다. *C. vulgaris* 증식을 위한 최적 pH는 pH 7~7.5로 조사되었다.

주제어 : 클로렐라 불가리스, 클로로필, 증식, 광세기

1. 서론

미세조류는 식물과 마찬가지로 광합성에 의해 이산화탄소, 물, 빛을 이용하여 유기물을 합성하지만, 식물에 비해 증식 속도가 빠르고, 유전자 조작이 용이하며 다양한 유용 물질을 생산할 수 있고, 기존의 식용작물이 아니라는 점에서 재생에너지원으로서 많은 장점을 가지고 있다.¹⁾ 미세조류의 단위면적당 바이오디젤 생산은(오일 함량이 30%인 경우) 약 58,700 L/ha로 대두(446 L/ha)에 비해 130배 많다.²⁾ 이와 같은 이유로 Haag³⁾는 미세조류에서 생산되는 바이오 디젤을 "Green Gold"라 칭했다. 최근에는 미세조류를 가지고 바이오디젤,⁴⁾ 유해한 중금속 제거,^{5,6)} 영양염류 제거⁷⁻¹⁰⁾ 등 많은 연구가 이루어지고 있다. 이탈리아 피렌체 대학에서는 소형 병합발전시스템에서 배출되는 연소가스를 미세조류 배양 시설에 공급하여 처리하고 생산된 미세조류를 혐기 소화하여 생산된 메탄을 병합발전시스템 연료로 사용하는 실증 연구에 착수하였다.¹¹⁾ 최근에 분리, 동정

된 해양성 미세조류인 *Chlorococcum littorale* 등과 같은 일부 광합성 미생물들은 20~50%의 이산화탄소 농도에서 내성을 가지는 것으로 알려져 있다.¹²⁾ Watanabe 등¹³⁾은 20~30%의 이산화탄소에 대해 내성을 갖는 담수성 미세조류인 *Chlorella*를 분리하여 동물사료로서의 활용성을 조사하였고, Sakai 등¹⁴⁾이 온천에서 분리한 *Chlorella*는 42 $^{\circ}\text{C}$ 의 고온에서도 성장 가능하였다. Papazi 등¹⁵⁾은 온천에서 분리한 *Synechococcus elongatus*를 대상으로 60 $^{\circ}\text{C}$ 의 고온과 60%의 이산화탄소 농도에서 빠른 성장에 대한 기작을 조사한 바 있고, 산성 및 고온 조건에서도 내성을 가진 미세조류를 탐색한 결과, 단세포 홍조인 *Galdieriapartita*는 pH 1, 50 $^{\circ}\text{C}$, 50 ppm, SO₂의 조건에서도 성장 가능한 것으로 보고하였다.

최근에는 연안의 부영양화 방지를 위한 구체적인 수질환경의 개선책이 요구되고 있는데, 그 방법으로 주목 받고 있다. 부영양화 된 연안의 양식장에서 미세조류를 재배하면 양식장에서 배출되는 용존 무기질소(N)나, 용존 무기인(P)을 미세조류가 흡수하고, 양식생물에게는 용존산소를 공급

[†] Corresponding author E-mail: leesm@kd.ac.kr Tel: 033-649-7535 Fax: 033-642-7635

할 수 있어 일거양득이다. 또한, 수질오염문제를 해결하기 위한 방법으로 하수오염원인 축산분뇨나 생활 오·폐수, 음식물찌꺼기 등을 미세조류의 먹이자원으로 사용하여 저비용으로 미세조류를 배양하고, 더불어 인, 질소 등 수질오염원의 하천유입을 막아 수질오염문제도 해결할 수 있다.¹⁶⁾ 이렇게 유용한 미세조류를 대량증식하기 위해서는 적당한 조도의 빛, CO₂, 무기영양소, 알맞은 온도 및 pH를 필요로 한다. 따라서 이들 최적 환경 인자를 고려한 합리적인 생산 시스템을 갖춘다면, 미세조류의 대량생산이 가능하게 되므로 환경 인자들의 최적화가 필수적이다.

지금까지의 연구는 주로 미세조류를 이용한 하·폐수에서의 영양염류 제거, CO₂ 고정화 및 미세조류를 이용한 바이오 오일 생산에 중점을 두고 있으며 미세조류의 증식에 대한 기초적인 연구가 미흡하다. 또한, 양식장의 배출수나, 하·폐수에 미세조류를 배양할 때 기본적인 미세조류의 최적 조건이(최적의 pH, 온도, 광세기) 결정되지 않았기 때문에 미세조류 배양에 많은 시행착오를 겪고 있다. 기본적인 최적 조건 결정 후 환경적 요인들의 변수를 조절한다면 미세조류 배양시에 나타나는 시행착오를 줄일 수 있으리라 생각된다. 따라서 본 연구에서는 미세조류 중 지방과 단백질의 함유량이 많아 유용성이 높고, 생명력이 강한 *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*)의 온도, 광세기 및 pH에 따른 증식률을 보고자 하였다.

2. 연구방법

2.1. 미세조류 배양 및 배지

실험에 사용된 *C. vulgaris* (FC-16)는 한국해양미세조류은행(KMMCC)에서 3~8 μm 크기의 둥근모양을 분양 받았다. 분양받은 *C. vulgaris* (FC-16) (3~8 μm) 10 mL를 100 mL의 Jaworski's Medium (4.0 g Ca(NO₃)₂ · H₂O, 2.48 g KH₂PO₄, 10.0 g MgSO₄ · 7H₂O, 3.18 g NaHCO₃, 0.45 g EDTAFeNa, 0.45 g EDTANa₂, 0.496 g H₃BO₃, 0.278 g MnCl₂ · 4H₂O, 0.20 g (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 0.008 g Cyanocobalamin, 0.008 g Thiamine HCl, 0.008 g Biotin, 16.0 g NaNO₃ and 7.2 g Na₂HPO₄ · 12H₂O in per 200 mL)에 접종시킨 후 25°C의 항온기에서 15일간 증식시켰다. 배지와 *C. vulgaris*가 약 110 mL 정도의 적은 양이기 때문에 공기 주입은 따로 하지 않았으나, 하루에 세 번씩 흔들어 주어 증식에 도움을 주었다.

2.2. 실험방법 및 측정방법

15일 동안 배양한 *C. vulgaris*를 원심분리기에 배지와 분리한 후 3 g 을 1,000 mL 배지에 넣고, pH 따른 증식률 실험은 항온기에 넣어 (25°C) pH 3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 9 로 실험하였다. 온도에 따른 증식률과 온도와 Light Intensity를 통한 증식률 실험은 pH 7~7.5에 맞추어 실험하였으며, 다양한 온도(10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C)와 다양한 광세기(100~800 μEm⁻²s⁻¹ 로 나누어 실험하였다.

*C. vulgaris*의 증식률을 위한 Cell-counting은 용액을 50 mL/Falcon 튜브에 담아 글루타르 용액으로 최종 농도 1%로 고정 시킨 후, 고정한 시료를 4시간 이내에 광학 현미경 하에서 200X 배율로 측정하였다. 총 엽록소 측정은 500 mL를 GF/F (Ø 0.45 μm, Whatman)필터로 여과한 다음, 습기를 제거하고 90% 아세톤으로 암/냉장 하에서 12시간 동안 색소를 추출하여 실시하였다. 엽록소는 형광분석기(TD-700, Turner Designs)를 이용하여 흡광도를 측정한 후, 엽록소 a 값으로 환산하였다. 엽록소 측정은 100 mL 시료를 20 μm, 3 μm, 0.45 μm (GF/F 필터)로 단계적으로 여과한 후, 각각의 필터를 총 엽록소 분석방법과 동일하게 실시하였다. 이때 세포의 파괴를 줄이기 위해 일정한 압력(100 mmHg) 하에서 여과하였다. pH는 S20-K (Mettler Toledo)로 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 온도와 광세기에 따른 증식률

미세조류의 성장은 종에 따라 다양한데 일반적으로 광합성에 의한 성장 및 증식에서 온도와 빛의 강도는 매우 중요한 성장 및 증식요소이다. 온도조절 및 광주기(Light and dark)의 적절한 설정은 미세조류의 증식을 증대시킬 수 있는 방법이다. 온도와 빛은 미세조류의 신진대사율에 직접적인 영향을 미치기 때문에 미세조류를 이용한 영양염류 제거 효율에 영향을 미치는 가장 중요한 물리적 영향 인자이다. 즉, 미세조류는 스스로 내부의 온도 조절 기능이 없기 때문에 주변 환경의 온도와 빛은 미세조류의 바이오매스 성분, 신진대사, 그리고 신진대사의 반응속도에 직접적으로 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 온도에 따른 *C. vulgaris*의 증식률을 Table 1에 나타내었다.

*C. vulgaris*를 증식하는데 걸리는 doubling time은 10°C에서 45.6±2.6 h, 15°C에서 30.3±2.1 h, 20°C에서 16.1±1.5 h, 25°C에서 8.86±0.6 h, 30°C에서 8.7±0.6 h, 35°C에서 8.8±0.6 h로 측정되었다. 25°C, 30°C와 35°C에서는 걸리는 시간

Table 1. Characteristics of *C. vulgaris* by various temperature (pH: 7-7.5, Light Intensity: 100 μEm⁻²s⁻¹)

Characteristic	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
Doubling time (h)	45.6±2.60	30.3±2.11	16.1±1.52	8.8±0.62	8.7±0.63	8.8±0.61
Chl. a/b	7.4±0.54	6.9±0.51	4.5±0.47	3.9±0.41	3.8±0.40	3.9±0.41
Chl. per cell (fg)	120±28.04	230±30.22	390±35.63	632±43.01	633±42.31	633±43.1
Cell volume (μm ³)	90.2±2.50	91.4±2.21	96±1.92	105.2±1.52	105.3±1.52	105.4±1.52

이 비슷했으나 10°C에서는 25~35°C 보다 5.2~5.5배의 시간이 더 필요했다. 셀 당 클로로필 함량은 10°C에서 120±28 fg, 15°C에서 230±30.2 fg, 20°C에서 390±35.6 fg, 25°C에서 632±43 fg, 30°C에서 633±42.3 fg 그리고 35°C에서 633±43.1 fg이 측정되어 *C. vulgaris*를 증식하는데 doubling time과 마찬가지로 25~35°C에서는 셀 당 클로로필 함유량이 비슷했으며, 10°C에서 증식시킨 *C. vulgaris* 보다 클로로필의 함량이 5.0~5.5배 높았다. 단위 면적당 Cell Volume도 10°C 보다 25~35°C에서 훨씬 높아 배양온도에 따라서 클로로필의 함량과 단위면적당 Cell Volume이 14% 이상 차이가 있었다. Muñoz et al.¹⁸⁾은 *C. vulgaris*를 이용한 실험에서 온도가 25°C와 30°C일 때 10°C 보다 증식률은 4배 이상 높았으며, 영양염류 제거율도 2배 이상 높았다고 보고했다. Ogonna et al.¹⁹⁾은 *C. vulgaris*를 이용하여 온도에 따른 증식률 실험 결과 30°C일 때 1.30 $\mu\text{max day}^{-1}$ 로 가장 높았다. Lee and Lee²⁰⁾도 역시 25~35°C 사이 일 때 2.0 $\mu\text{max day}^{-1}$ 의 가장 높은 증식률을 얻어 25~35°C 사이가 다른 온도에 비하여 *C. vulgaris*의 증식률이 가장 높음을 알 수 있었다. 본 실험 결과에서도 25~35°C가 10°C 보다 doubling time 및 클로로필 함량이 5배 이상 높았다. 반면 25~35°C 사이에는 거의 변화가 없었다.

Fig. 1은 온도와 광세기에 따른 *C. vulgaris*의 증식률을 나타내었다. *C. vulgaris*의 증식률을 구하는 식은 아래와 같다.

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / (t_t - t_0) * 100 \quad (1)$$

μ 는 *C. vulgaris*의 증식률, N_0 은 *C. vulgaris*의 초기 농도, N_t 은 t 시간에 *C. vulgaris*의 농도이다.²¹⁾ 광세기 100 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 10°C에서는 0.2 day^{-1} , 15°C에서 0.69 day^{-1} , 20°C에서 0.9 day^{-1} , 25°C에서 1.15 day^{-1} , 30°C에서 1.2 day^{-1} 그리고 35°C에서 1.05 day^{-1} 가 측정되어 30°C, 100 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 *C. vulgaris*의 증식률이 가장 높았다.

특히 30°C (1.2 day^{-1})가 10°C (0.2 day^{-1}) 보다 83%, 15°C (0.69 day^{-1}) 보다는 42.5% 증식률이 높았다. 광세기 100 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 25°C와 30°C의 증식률은 각각 1.15 day^{-1} 과 1.2 day^{-1} 를 나타내어 큰 차이가 없었다. 하지만 광세기 200

$\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 을 넘으면 20°C에서 0.7 day^{-1} , 25°C와 30°C에서 0.77 day^{-1} 의 *C. vulgaris*의 증식 유지율이 측정되어, 20°C, 25°C와 30°C에서는 비슷한 증식률을 유지했으나 30°C에서는 0.58 day^{-1} 증식률이 떨어졌다. 광세기 400 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서는 20°C와 25°C에서 각각 0.57 day^{-1} , 0.52 day^{-1} 의 *C. vulgaris*의 증식율이 측정되어 30°C의 0.28 day^{-1} 보다 50% 정도 *C. vulgaris*의 증식률이 높음을 알 수 있었다. 실험결과 25~30°C 사이와 100~150 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광세기가 *C. vulgaris*의 증식에는 최적의 조건임을 알 수 있었다. 광세기가 400 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상이 되면 *C. vulgaris*의 증식율에 변화가 없어 *C. vulgaris*의 활동력이 현저히 떨어짐을 알 수가 있었다. *C. vulgaris*는 광합성을 하는 단세포 생물로서 광합성을 통해 이산화탄소를 포도당(글루코스)과 산소로 전환하고 생성된 글루코스로 살아간다. 1905년 영국의 블랙만은 온도와 빛세기를 변화시키면서 광합성이 어떻게 변하는지를 조사하였다. 실험결과 조도가 120 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 까지는 조도가 높아질수록 광합성률이 높아지지만, 조도가 120 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서는 아무리 조도를 증가시켜도 광합성률은 증가하지 않았다. 또한, 조도가 낮을 때는 온도변화에 관계없이 광합성률이 거의 일정하다. 따라서 저온에서는 빛이 광합성의 한정요인이 되고, 조도가 높아지면 저온에서 온도가 상승함에 따라 광합성속도는 상승하므로 온도가 한정요인이 된다. 온도가 증가하면 광합성률이 증가하다가 고온에서 광합성 속도가 급격히 감소되는데 이는 광합성이 효소에 의해 일어나며 효소에 영향을 받는 반응이라는 것을 나타내 준다.²²⁾

3.2. 최적 배양기간

온도와 광세기의 관계에 따른 증식률의 실험에서 나타났듯이 *C. vulgaris*는 25~30°C 사이에서 증식률이 가장 높았고, Light Intensity가 강할수록 25°C에서의 증식률은 다른 온도보다 높게 유지되었다. Light Intensity 100 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 25°C와 30°C에서의 *C. vulgaris* 증식률은 큰 차이가 없어서 본 실험에서는 25°C에 온도를 맞추어 *C. vulgaris* 최적의 배양기간을 알아보았다. Fig. 2에 25°C의 항온기에서 *C. vulgaris*의 배양속도를 나타내었다. 초기부터 5일까지 *C.*

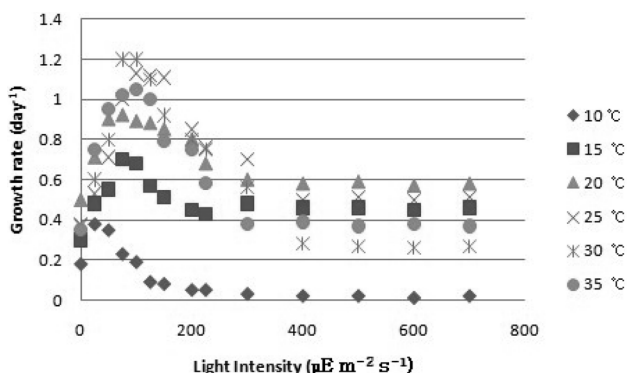


Fig. 1. The relation between temperature and light Intensity by *C. vulgaris* (pH: 7-7.5).

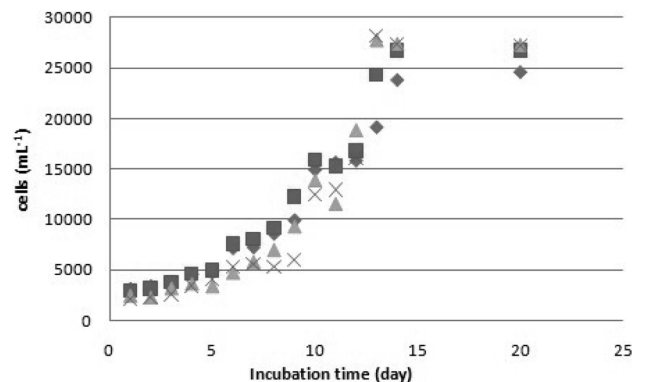


Fig. 2. The growth rate of *C. vulgaris* (pH: 7-7.5, Temperature: 25°C).

*vulgaris*의 배양속도는 느리게 증가했지만, 6일 이후부터 15일까지는 폭발적으로 증가했음을 알 수 있다. 또한 15일 이후에는 거의 증식이 멈춰 *C. vulgaris*의 배양은 15일 정도가 적당한 것을 알 수 있었다. Wu and Shi⁽²³⁾도 *Chlorella*를 고밀도 배양하기 위한 최적화 실험에서 12~15일이 *Chlorella* 배양에 최적 기간임을 발표했다.

3.3. pH에 따른 증식률

pH는 온도, 빛과 같이 미세조류의 생식에 중요한 영향인자이다. 미세조류 시스템에서 medium 안의 pH는 바이오매스 조절, 미세조류의 광합성 그리고 미세조류에 대한 인의 가용성에 영향을 미친다.²⁴⁾ 또한, pH는 미세조류에 대한 암모니아의 독성에 영향을 미치는데 이는 NH₃와 NH₄ 비율의 영향에 따른 미세조류의 생존에 영향을 미친다.²⁵⁾ 이미 20년 동안의 연구결과 pH는 미세조류안의 CO₃²⁻, HCO₃⁻ 및 CO₂의 상대적인 양의 상관관계에 영향을 미치는 즉, 무기탄소의 가용성에 영향을 미쳐 pH가 직접적으로 *C. vulgaris*의 대사속도에 영향을 미침을 발견했다.²⁶⁾ Fig. 3에 pH에 따른 *C. vulgaris*의 증식률을 나타내었다.

pH 3과 pH 9에서 *C. vulgaris* 증식률은 현저하게 저조했으며, pH 7과 pH 7.5에서의 *C. vulgaris* 증식률은 pH 3과 9에서보다 80~85% 정도 높았다. pH 7 과 pH 7.5에서의 *C. vulgaris* 증식률은 pH 7.5가 pH 7 보다 약간 증식률이 높기는 했으나, 거의 차이가 없이 비슷한 증식률을 나타냈다. pH 3과 pH 9에서의 *C. vulgaris* 증식률은 25시간 후에는 전혀 변화가 없었고, 약 5일 후(125시간)에는 모든 pH에서 증식률에 큰 변화가 없었다. 초기 2일 동안 *C. vulgaris*가 pH 5에서는 67%, pH 7에서는 81%, pH 7.5에서는 85%의 증가율을 보여 pH 3과 pH 9를 제외하고 *C. vulgaris*가 폭발적으로 증가했음을 알 수 있었다. 실험결과 pH 7~7.5 정도가 가장 성장률이 좋았고 pH가 너무 낮거나 높을 경우 (pH 3 이하 또는 pH 9 이상) 증식률이 저조할 뿐만 아니라 오히려 폐사했다. Mayo와 Noike⁽²⁷⁾ pH가 높으면 *C. vulgaris*는 스트레스를 받게 되며 이때 유독 긴사슬의 지방산을 배출하는 것을 확인하였으며, pH 7, 25℃ 근처에서 *C. vulgaris*는 가장 적은 스트레스를 받으며 성장에 최적의 조건

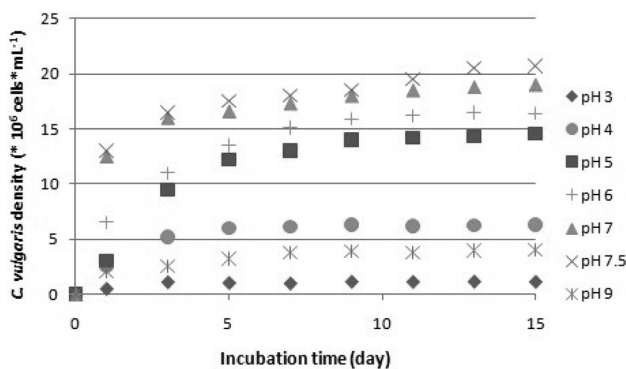


Fig. 3. The growth rate of *C. vulgaris* by various pH (Light Intensity: 100 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, Temperature: 25°C).

이었다. *C. vulgaris*는 광합성을 통하여 생성된 글루코스로 살아간다. 실험결과 pH가 8이상일 경우 글루코스의 친화력은 감소하기 시작했으며 즉, pH가 너무 높거나 낮은 경우 (pH가 3 이하이거나 9 이상) *C. vulgaris*는 성장에 필요한 글루코스를 축적하기가 어려워 폐사한 것으로 추측된다.¹⁷⁾

4. 결론

본 연구에서의 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 같은 양의 *C. vulgaris*를 증식하는데 걸리는 시간은 10°C에서는 25~35°C 보다 약 5.2~5.5배의 시간이 더 걸리는 것을 알 수 있었다. Chlorophyll 색소의 함량도 25~35°C가 10°C에서 증식시킨 *C. vulgaris* 보다 5~5.5배 높았다.
- 2) 단위 면적당 Cell Volume은 25~35°C가 10°C 보다 14% 이상 높았으며, 본 실험에서 *C. vulgaris* 최적 배양온도는 25~35°C였다. 배양기간은 15일이 가장 적합하였다.
- 3) 초기부터 5일까지 *C. vulgaris*의 배양속도는 느리게 증가했지만, 6일 이후부터 15일까지는 폭발적으로 증가했다. 또한 15일 이후에는 거의 증식이 멈춰 *C. vulgaris*의 배양은 15일 이내가 적당한 것을 알 수 있었다.
- 4) pH 7.5와 pH 7에서 *C. vulgaris*의 증식률은 가장 높았고, 비슷한 증식속도를 나타내었다. 반면 pH 3, 9에서는 증식률이 현저하게 낮았으며 시간이 지남에 따라 오히려 폐사하였다.

사사

본 연구는 한국연구재단의 여성과학자 지원사업(2010-0002804)으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

KSEE

참고문헌

1. Alain, D., Jean, D., Françoise, P. and Lhoussaine, B., "Growth rate four freshwater algae in relation to light and temperature," *Hydrobiol.*, **207**, 221~226(2000).
2. Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae," *Biotechnol. Adv.*, **25**, 294~306(2007).
3. Haag, A. L., "Algae bloom again," *Nature*, **447**, 520~521(2007).
4. Van Gerpen, J., "Biodiesel processing and production," *Fuel Proc. Technol.*, **86**, 1097~1107(2005).
5. Kalin, M., Wheeler, W. N. and Meinrath, G., "The removal of uranium from mining waste water using algal/microbial biomass," *J. Environ. Radioact.*, **78**, 151~177(2005).
6. Muñoz, R. and Guieysse B., "Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review," *Water*

- Res., **40**, 2799~2815(2006).
7. An, J. K., Sim, S. J., Lee, J. S. and Kim, B. K., "Hydrocarbon production from secondarily treat piggery wastewater by the green algae *Botryococcus braunii*," *J. Appl. Phycol.*, **15**(2-3), 185~191(2003).
 8. Kim, J., Lingaraju, B. P., Rheume, R., Lee, J. Y. and Siddiqui, K. F., "Removal of ammonium from wastewater effluent by *Chlorella vulgaris*," *Tsinghua Sci. Technol.*, **15**(4), 391~396(2010).
 9. Kang, C. D., An, J. Y., Park, T. H. and Sim, S. J., "As-taxanthin biosynthesis from simultaneous N and P uptake by the green alga *Haematococcus pluvialis* in primary-treated wastewater," *Biochem. Eng.*, **31**(3), 234~238(2006).
 10. Olguin, E. J., Galicia, S., Mercado, G. and Perez, T., "Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions," *J. Appl. Phyco.*, **15**(2-3), 249~257(2003).
 11. Moreno-Garrido, I., "Microalgae immobilization: current techniques and uses," *Bioresource Technol.*, **99**, 3949~3964(2008).
 12. Hu, G., Kurano, N., Kawachi, M., Iwasaki, I. and Miyachi, S., "Ultra-high-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococum littorale* in a flat-plate photobioreactor," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**, 655~662(1998).
 13. Watanabe, K., Imase, M., Sasaki, K., Ohmura, N., Saiki, H. and Tanaka, H., "Composition of the sheath produced by the green alga *Chlorella sorokiniana*," *Lett. Appl. Microbiol.*, **42**(5), 538~543(2006).
 14. Sakai, N., Sakamoto, Y., Kishimoto, N., Chihara, M. and Karube, I., "Chlorella strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂," *Energy Conv. Manag.*, **36**, 693~696(1995).
 15. Papazi, A., Markridis, P., Divanach, P. and Kotzabasis, K., "Bioenergetic changes in the microalgal photosynthetic apparatus by extremely high CO₂ concentrations induce an intense biomass production," *Physiol. Plant.*, **132**, 338~349(2008).
 16. De-Bashan, L. E., Moreno, M., Hernandez, J. P. and Bashan, Y., "Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by microalgae *Chlorella vulgaris* co-immobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*," *Water Res.*, **36**, 2941~2948(2002).
 17. Grobbelaar, J. U., "Physiological and technological considerations for optimizing mass algal cultures," *J. Appl. Phyco.*, **12**, 201~206(2000).
 18. Muñoz, R., Rolvering, C., Guieysse, B. and Mattiasson, B., "Photosynthetically oxygenated acetonitrile biodegradation by an algal-bacterial microcosm: a pilot scale study," *Water Sci. Technol.*, **51**(12), 261~265(2005b).
 19. Ogbonna, J. C. and Tanaka, H., "Light requirement and photosynthetic cell cultivation-development of processes for efficient light utilization in photobioreactors," *J. Appl. Phycol.*, **12**, 207~218(2000b).
 20. Lee, K. and Lee, C. G., "Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae," *Biotechnol. Bio-process Eng.*, **6**, 194~199(2001).
 21. Valderrama, L. T., Del Campo, C. M., Rodriguez, C. M., de-Bashan, L. E. and Bashan, Y., "Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric and production using the microalga *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*," *Water Res.*, **36**, 4185~4162(2002).
 22. Briggs, G. E., "Blackman, Frederick Frost," @. New York: Charles Scribner's Sons. 183~185.
 23. Wu, Z. and Shi, X., "Optimization for high-density cultivation of heterotrophic *Chlorella* based on a hybrid neural network model," *Lett. Appl. Microbiol.*, **44**(1), 13~18(2007).
 24. Lee, Y. K., "Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential," *J. Appl. Phycol.*, **13**, 307~315(2001).
 25. Azov, Y. and Goldman, J. C., "Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures," *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 735~739(1982).
 26. Tadesse, I., Green, F. B. and Puhakka, J. A., "Seasonal and diurnal variations of temperatures, pH and dissolved oxygen in advanced integrated wastewater pond system treating tannery effluent," *Water Res.*, **38**, 645~654(2004).
 27. Mayo, A. W. and Noike, T., "Effects of temperature and pH on the growth of heterotrophic bacteria in waste stabilization pond," *Water Res.*, **30**(2), 447~455(1996).