

GOVP1199601075

치어양식을 위한 동물성 플랑크톤의 먹이조류
배양조 개발에 관한 연구

A Study on the Development of Photobioreactor
for
Mass Production of Microalgae as Live Feed for Animal Plankton

연구기관

해양산업개발연구소

농림수산부



제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “치어양식을 위한 동물성 플랑크톤의 먹이조류 배양
조 개발에 관한 연구” 과제의 연차 보고서로 제출합니다.

1995. 12. .

주관연구기관명 : 부산수산대학교 해양산업개발 연구소

총괄연구책임자 : 부산수산대학교 교 수 한 봉 호

협동과제연구책임자 : 동서공과대학 전임강사 조 만 기

요 약 문

I. 제목

치어 양식을 위한 동물성 플랑크톤의 먹이 조류 배양조 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

가. 최종 연구개발사업 목표

국내 실정에 알맞고 조작이 간단한 단세포 조류 배양조를 설계, 제작하여 어민들에게 공급하며, 현장에서 적용성이 증명되면 업자에게 의뢰하여 배양조의 생산을 유도하고, 국내 공급은 물론 수출도 도모하여, UR, GR, TR, WTO 및 3D 현상에 대하여 능동적으로 대처하고자 한다. 또한 단세포 조류 배양조 제작 기술을 축적시켜서 단세포 조류의 국내에서의 대량 생산과 공급을 통하여 연간 100억원 이상의 수입대체 효과를 가져올 수 있도록 한다.

나. 당해년도 연구개발사업 목표

지금까지 독일 및 선진국에서 개발된 배양조 기술을 이전받아, *Chlorella* 배양에서 제어되어야 할 각종 인자와 최적 배양 조건을 연구한 후, 이를 기초로 국내 실정에 맞고 조작이 간단한 모형 단세포 조류 배양조들을 제작하여 각종 제어 인자의 변화를 검토하며, 동시에 최적 배양조건의 설정이 자동화될 수 있는 배양조 설계에 착수한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

현재 국내의 양식업계에서는 치어의 사료로 사용하고 있는 *Rotifer* 등의 동물성 플랑크톤의 먹이인 *Chlorella*를 매년 100억원 상당의 양을 농축액으로 일본으로 부터 수입하고 있다. 또한, 우리 나라의 경우 대부분이 개방식 배양조로만 단세포 조류를 소량 생산하고 있기 때문에 협잡물이나 타미생물에 의한 오염의 위험성이 커서 배양물의 품질이 좋지 않을뿐만 아니라, 배양조의 온도 조절이 불가능하여서 일년 중의 일정 시기에만 집중적으로 배양하고 있으며, 단위 배양 면적당의 생산성도 대단히 낮고, 현지 어민들이 공정공학적 기술을 전혀 갖추고 있지 못하여서 현재의 배양조의 개량 또는 새로운 배양조의 개발 역시 전혀 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구진은 선진 독일 포츠담의 곡물가공연구소와 베를린 공대(TU Berlin)의 생물공학연구소를 방문, 미세조류 대량 배양조 개발 현황을 살펴보고, 공동연구를 통해 배양조를 개발함으로써 단세포 조류 배양조를 설계, 개발할 수 있는 기술을 축적하여 국내 실정에 알맞고 조작이 간단한 배양조를 개발하고자 한다. 이를 위하여 소규모 배양조를 만들어 단세포 조류 배양에서의 각종 제어 인자들을 찾고, 그 결과를 단세포 조류의 실제 생산이 가능한 규모와 형태로 scale-up시켜서 배양조를 제작하여 어민들에게 시험, 공급하고자 한다. 현장에서의 적용성이 증명되면 업자에게 의뢰하여 배양조의 생산을 유도하고 국내 공급은 물론 수출도 도모함으로써 현재까지의 낙후된 기술로 인하여 연간 100억원 이상의 불필요한 국고 손실을 야기하고 있는 *Chlorella* 수입을 국내 생산으로 대체시키고, 양식 어민들의 양어 경비를 절감시키며, 기술을 이전받아 생산체계를 갖춘 어민들은 새로운 소득원을 확보할 수 있게 하고자 한다.

또한 지속적인 연구를 통하여 단세포 조류로 부터 천연 색소, EPA와 같은 고도불포화지방산, 비타민, β -carotene 등의 고부가가치의 신기능성 소재를 획득할 수 있는 기틀을 마련하여, 단세포 조류가 단순히 동물성 플랑크톤의 먹이라는 차원을 넘어서 생물신소재의 공급원임을 어민들에게 인

식시킴은 물론, 이를 현실화시켜 어민들의 소득 증대에 기여하고자 한다. 이와 같은 목적에서 일차적으로 미세조류 대량 배양조를 개발하고자 한다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 주요연구개발 사업내용 및 중간 결과

가. Vertical tubular photobioreactor(VT-PBR)의 제작과 설계 정보 :

VT-PBR을 제작하여, 국립수산진흥원 남해수산연구소 총무분소의 *Chlorella* sp.를 해수배지에서 배양하면서 온도, 공기 공급속도, 조도 및 CO₂ 농도의 영향을 조사한 결과, 최적 배양조건은 온도가 20℃, 조도가 6,000lux, 공기 공급속도는 배지에 대하여 0.56vvm이었고 sparger는 nozzle 형이 효과적이었다.

VT-PBR은 체적에 대한 표면적의 비(S/V)가 60m⁻¹로 커서 cell의 농도가 높아지더라도 빛이 충분히 공급되어 *Chlorella*가 고농도(8.42×10⁷cells/ml)에 이를 수 있는 장점이 있었다.

그러나 배양용량(cultivation volume)이 너무 작아서 소량의 CO₂를 공급하여도 배양액의 pH가 낮아지기 때문에 *Chlorella* sp.의 증식이 비효과적인 단점이 확인되었다.

VT-PBR을 scale-up시킬 때 S/V를 크게 유지하려면 관형으로 제작하여야 한다. 그러나 관형 배양조의 경우에는 내부 aeration이 불가능하고 산소의 축적율이 매우 높아지는 단점이 파악되었고, VT-PBR의 경우 cultivation volume이 작아서 최적 CO₂ 농도를 찾기 어려운 문제점도 지적되었다.

나. Recirculating vertical cylindric photobioreactor(RVC-PBR)의 제작
과 설계 정보 :

VT-PBR의 단점들을 개선하기 위하여 gas 교환기를 장착하고 cultivation volume을 크게한 RVC-PBR을 제작하여, 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.를 해수배지에서 배양하면서 CO₂ 농도의 영향과 gas 교환기의 효과를 조사하였다. 이 때 배양온도와 조도, 그리고 공기 공급속도는 VT-PBR에서의 결과를 적용하였다. 배양결과를 종합하면, 최적 CO₂ 공급속도는 배지에 대하여 $0.38 \times 10^{-3} \text{vvm}$, pH는 7.2~7.5 였고, gas 교환기의 채택은 산소제거에 효과적이었다.

RVC-PBR의 장점으로는 gas 교환기의 채택으로 aeration에 필요한 동력비를 절감할 수 있고, 배양액에 축적된 산소의 효과적 제거, 배양액의 순환에 의한 cell의 침전 방지 등을 들 수 있다. 그리고 CO₂의 공급으로 VT-PBR에서보다 상대적으로 높은 비증식속도(specific growth rate, μ)에 도달할 수 있었다. 그러나 RVC-PBR은 S/V가 41m^{-1} 로 VT-PBR보다 상대적으로 낮아 cell의 최대 농도가 $5.2 \times 10^7 \text{cells/ml}$ 정도였다. 또한 gas 교환기에서 CO₂를 공급할 때 대기중으로 방출되는 CO₂ 양이 많아서 배양 단가를 상승시키는 요인이 될 수 있었고, 일정한 pH의 조절이 어려웠다.

다. Plant cell photobioreactor(PC-PBR)의 설계 정보 :

RVC-PBR의 단점들을 개선하기 위하여, CO₂의 공급속도 조절과 그에 따른 pH의 조절이 가능한 air-lift형 배양조(Model KLF2000, Bioengineering사, Swiss)를 개조하여 *Chlorella*의 배양에 응용하였다. *Chlorella*는 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 해수산 *Chlorella* sp.와 독일 Göttingen 대학에서 분양받은 담수산 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 사용하였다. 해수산 *Chlorella* sp.는 20°C, *Chlorella vulgaris*는 25°C에서, 그리고 조도 6,000lux하에서 1,000rpm으로 교반하며 배양하였다.

PC-PBR에서 해수배지를 이용하여 *Chlorella*를 배양한 결과를 종합해 보면, 남해수산연구소의 *Chlorella* sp.의 배양 최적 pH는 7.2~7.5이고, 이를 지표로 CO₂를 공급하는 것이 바람직하였다. 그리고 batch type의 PBR에서 배양할 때, 배양액 중의 과포화 용존산소 제거에는 공기의 공급이 필수적이었다.

담수산 *Chlorella vulgaris*의 해수배지에서의 배양 최적 pH는 7.5 부근이었다. 그리고 해수배지보다는 담수배지에서 비증식속도가 크기 때문에 대량 배양에는 남해수산연구소의 *Chlorella* sp.보다 담수산 *Chlorella vulgaris*가 더 유리하였다.

*Chlorella vulgaris*의 배양에서는 cell의 농도가 높으면, 빛의 투과성이 낮아지므로 배양조를 설계할 때는 S/V가 커지도록 설계하여야 한다. PC-PBR은 VT-PBR이나 RVC-PBR에 비해 S/V가 작아서 빛의 부족 현상 때문에 고농도 배양이 어려우며, PC-PBR을 10배 정도로 scale-up시키면 S/V는 3.17m⁻¹정도로 더욱 작아져서 대량 배양을 위한 대형 배양조로는 부적합하게 되는 단점이 있다.

라. Semi-closed raceway pond type photobioreactor(SCR-PBR)의 제작과 설계 정보:

VT-PBR, RVC-PBR 및 PC-PBR의 단점을 보완하여 모형 배양조를 scale-up시킬 때 S/V가 커질 수 있도록 SCR-PBR 형태로 배양조를 제작하고 효과적인 산소제거를 위해 gas 교환기를 부착하였다. 빛의 공급에 드는 경비를 줄이기 위해 태양광과 인공광을 사용할 수 있도록 하였으며, 현재 *Chlorella vulgaris*를 담수배지에 배양하면서 효율성을 검토 중에 있다.

마. 배양공정 자동화 프로그램의 개발

*Chlorella*의 비증식속도에 영향을 미치는 인자들의 파악은 거의 완료되었으며, 이들을 적용할 최종 배양조 모델을 설정한 후, 이에 맞추어서 배양

공정 자동화 프로그램을 개발하고자 한다. 전체 프로그램의 골격은 이미 완성되었고, 배양조의 온도제어 프로그램은 거의 완성단계에 있으며, pH 조절을 위한 CO₂ 공급량, 빛의 공급량, 용존산소량 조절을 위한 공기공급량 등을 조절할 프로그램은 각종 IC모듈 및 A/D, D/O변환기를 통하여 미리 보정되어있는 각각의 값들을 배양조내에서 항상 일정하게 유지될 수 있도록 자체 개발하고자 한다.

2. 연구개발사업 성과에 대한 활용 (실용화) 방안

1, 2차년도 연구에서 최적의 단세포 조류 배양조를 설계·제작하여 그 가능성을 시험하고, 대량 배양이 가능한 규모로 확대·제작하여 협동연구자인 양식업자에게 시험 공급하여 양식 어류의 먹이인 동물성 플랑크톤의 먹이생물로서의 *Chlorella*를 대량 배양하도록 한다.

그 효율성이 입증되면 수산청 또는 수산업협동조합이나 기타 기관을 통하여 전체 양식 어민에게 이를 보급하며, 아울러서 타 학문 분야의 연구 결과를 접목시켜 신기능 소재 공급원으로서의 해산 미세조류의 이용 방안을 강구하여 어민 소득증대를 극대화한다.

In this study, we tried to find out the optimum conditions for design and development of photobioreactor (PBR) system, which would be used for mass production of microalgae, such as *Chlorella*, as a live feed for *Rotifer* which has been indispensable to fry aquaculture. Furthermore, we tried to develop an automatic process control program.

The optimum cultivation conditions for *Chlorella* sp., which has been cultured at Nam-Hae Branch of National Fisheries Research and Development Agency, in vertical tubular photobioreactor (VT-PBR) were as follows : temperature; 20°C, illumination intensity; 6000lux, air supply rate; 0.56vvm. The optimum pH range in recirculating vertical cylindric photobioreactor (RVC-PBR) with optimal CO₂ supply rate (0.38×10^{-3}) was 7.2~7.5. The results using plant cell photobioreactor (PC-PBR) showed that *Chlorella vulgaris* 211-11b was more beneficial for mass cultivation than mixed type wild *Chlorella* sp.. Proper aeration was indispensable to reduce dissolved oxygen (DO) concentration.

Geometrical form of photobioreactor must be induced to magnify the ratio of surface to volume (S/V). In a view point of S/V, plate-type photobioreactor was superior to the other types. Therefore, we selected semi-closed raceway pond type photobioreactor (SCR-PBR) as plate-type PBR and extensive study would be done.

CONTENTS

Chapter I . Introduction

Chapter II. Materials and methods

Section 1. Photobioreactor (PBR)

1. Vertical tubular photobioreactor (VT-PBR)
2. Recirculating vertical cylindric photobioreactor (RVC-PBR)
3. Semi-closed raceway pond type photobioreactor (SCR-PBR)
4. Plant cell photobioreactor (PC-PBR)

Section 2. Experimental methods

1. *Chlorella*. strains for experiment
2. Culture medium
3. Cell count
4. Experimental conditions

Chapter III. Results and discussion

Section 1. Design information from VT-PBR

1. Effect of temperature
2. Effect of air supply rate
3. Effect of illumination intensity
4. Effect of CO₂ concentration

Section 2. Design information from RVC-PBR

1. Effect of CO₂ concentration
2. Effect of gas exchanger

Section 3. Design information from PC-PBR

1. Culture of *Chloralla* sp.
2. Culture of *Chloralla vulgaris*.
3. Culture of *Chloralla vulgaris* in sea and fresh water medium

Section 4. Design information from SCR-PBR

Section 5. Comparison of prototype photobioreactors

Section 6. Development of automatic program for culture process

1. Control system
2. Flow chart of program
 - ① Flow chart for total process control
 - ② Flow chart for temperature control
 - ③ Flow chart for pH control
 - ④ Flow chart for CO₂ supply control
 - ⑤ Flow chart for illumination intensity control
 - ⑥ Flow chart for DO concentration control
3. Development of sensor
 - ① Temperature sensor
 - ② pH Sensor for pH, CO₂, illumination intensity and DO
4. Application of process automation

목 차

제 1 장. 서 론

제 2 장. 재료 및 방법

제 1 절. 배양조

제 1 항. Vertical tublar photobioreactor (VT-PBR)

제 2 항. Recirculating vertical photobioreactor (RVC-PBR)

제 3 항. Semi-closed raceway pond type photobioreactor (SCR-PBR)

제 4 항. Plant cell photobioreactor (PC-PBR)

제 2 절. 실험방법

제 1 항. 실험에 사용한 *Chlorella*

제 2 항. 배양액

제 3 항. 세포수의 계수(Cell count)

제 4 항. 실험 조건

제 3 장. 결과 및 고찰

제 1 절. Vertical tublar photobioreactor (VT-PBR)의 제작과 설계 정보

제 1 항. 온도의 영향

제 2 항. 공기공급 속도의 영향

제 3 항. 조도의 영향

제 4 항. CO₂의 영향

제 2 절. Recirculating vertical photobioreactor (RVC-PBR)의 제작과 설계정보

제 1 항. CO₂농도의 영향

제 2 항. Gas 교환기의 영향

- 제 3 절. Plant cell photobioreactor (PC-PBR)의 제작과 설계 정보
 - 제 1 항. 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소 *Chlorella* sp.의 배양
 - 제 2 항. *Chlorella vulgaris*의 배양
 - 제 3 항. 담수 및 해수 배지에서 *Chlorella vulgaris*의 배양
- 제 4 절. Semi-closed raceway pond type photobioreactor (SCR-PBR)의 제작과 설계 정보
- 제 5 절. 실험에 사용된 배양조들의 비교
- 제 6 절. 배양공정 자동화 프로그램의 개발
 - 제 1 항. 전체 control 시스템
 - 제 2 항. 프로그램의 개요
 - ① 전체 공정 제어에 대한 흐름도
 - ② 온도 제어에 대한 흐름도
 - ③ pH 제어에 대한 흐름도
 - ④ CO₂ 공급량 제어에 대한 흐름도
 - ⑤ 빛의 공급량 제어에 대한 흐름도
 - ⑥ 용존산소량 제어에 대한 흐름도
 - 제 3 항. 각각의 인자들을 제어하기 위한 센서의 개발
 - ① 온도센서
 - ② pH, CO₂, 빛의 공급량 및 용존산소 농도 제어를 위한 센서
 - 제 4 항. 공정자동화의 앞으로의 활용방안

제 1 장 서 론

육상과 해양 생태계 전반에 걸쳐 광합성에 의하여 생산되는 유기물의 년중 생산량은 2×10^{11} ton fixed carbon/year로 추정되고 있다(Hader, 1993). 이중 식물성 플랑크톤이 총 생산량의 50% 이상을 차지하고 있다. 이는 수산생물 분야에 있어서의 미세 조류의 중요성을 시사한다고 하겠다. 미세조류를 배양하여 연료(H_2 -gas 생성), 어패류 양식, 어류 양식용 동물성 플랑크톤의 먹이 사료 및 폐수 처리용(중금속 물질제거용)으로 이용하거나, 비타민, β -carotene (provitamin A), EPA 및 DHA 등의 고도불포화지방산, 천연 색소 등을 생산하기 위한 목적의 각종 연구는 거의 40년 전부터 계속 되어 왔다. 그리고 현재는 그 중요성이 인정되어 이들 단세포 조류의 상업적 생산을 위한 연구가 이루어지고 있으나, 아직까지 완벽한 성공 단계에 이르지 못하고 있다.

미세조류는 고등식물과 마찬가지로 생장을 위하여 적당한 조도의 빛, CO_2 공급, 무기영양소, 알맞는 온도 및 pH를 필요로 한다. 따라서 이들 인자를 고려한 합리적인 생산 시스템을 갖추어 준다면, 미세조류의 생산성을 증대시킬 수 있게 된다.

미세조류 배양에 있어서 photoautotropic capacity는 태양 조사량에 의해 제한되며, 그 크기는 표면적에 의해 좌우된다. 에너지 조사량은 $50E/m^2/PAR$ (광합성 유효조사량)로서 1mole의 CO_2 를 탄수화물로 전환 시키는데 필요한 10 quanta 요구량에 해당된다. 이때 수율은 $150biomass/m^2/day$ 이나, 실제 생산에서는 이론치의 최고 1/3 정도라고 알려져 있다. 즉, 미세조류 배양조 $1m^2$ 당 생산량은 효모나 세균 발효의 생산량의 1/10 이하에 해당하는 셈이다. 한편, 광합성 속도는 조도가 낮으면 광자(photon)의 양에 비례하여 증가하는 반면, 조도가 커지면 광합성 속도의

상승폭이 감소하여 일정한 수준에 도달하게 되고, 광선의 조사 강도가 너무 크면 photosynthetic receptor system PSII가 손상을 받는 photo-inhibition이 일어나게 된다. 대부분의 미세조류의 광포화치는 총 육상 태양 조사량의 약 30% 정도이기 때문에, 조사 에너지가 미세조류의 광합성 세포에 의해 연속적으로 이용될 수 있도록 하기 위해서는 배양조 표면에 보다 많은 양의 빛이 도달할 수 있도록 유도하는 것이 절대적이라 하겠다. 이를 laminar concept라 하는데, 식물의 잎이 얇은 판형으로 진화된 사실을 뒷받침하는 개념이다. 이 개념을 근거로 개발된 것이 관형 배양조로서 연구가 진행됨에 따라 관의 직경을 가늘게 변형시켰다가(Benemann, 1989; Gudín and Chaumont, 1991; Tredici and Materassi, 1992), 점차 얇은 판형으로 전환되었다(Romos et al., 1984; Tredici, 1991; Pulz, 1992a). 전형적인 관형과 판형 배양조를 비교해 보면, 외형적 생산력은 비슷해 보이나 차지하는 면적이나 체적에 대한 표면적의 비(S/V), 특히 빛의 전달 측면에서는 판형이 유리하다.

최근에는 배양조에서 고농도의 미세조류에 빛을 공급할 수 있도록 광섬유와 같은 light diffusing element를 사용하는 새로운 기술이 소개되고 있다. 이 기술을 이용하면 교반기가 달린 배양조에서도 고농도의 미세조류를 배양할 수 있으며 체적에 대한 표면적의 비(S/V)는 $500\sim 600m^{-1}$ 에 달하게 된다(Takano, 1992; Matsunaga, 1992). 그러나 이 장치는 고가의 재료비 때문에 상업성이 떨어지는 약점을 가지고 있다(Märkl, 1992).

상업적으로 가장 널리 이용되는 형태의 배양조로는 open raceway pond형 배양조를 들 수 있는데, 10~30cm의 깊이로 긴 라인(line)형의 연못 형태이며(Becker, 1981; Weissman et al., 1987), 체적에 대한 표면적의 비(S/V)는 약 $3\sim 5m^{-1}$ 정도이다. 배양조의 깊이가 12cm인 경우 심부에 도달되는 광자의 세기는 약 $10\mu E/m^2/s$ 로서 광합성 측면에서는 暗期에 해당한다(Vonshak and Guy, 1992). 그러나 배양액의 깊이에 따라 빛의 투과량이 급격히 감소하기 때문에 이 연못 형태의 배양조에서는 volumetric

productivity(space-time-yield)는 약 $0.08g/l/day$ 로서 만족할 만한 값이 되지 못하는 약점이 있다(Pulz, 1992b).

우리 나라에서도 최근 미세조류 배양에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으나, 상업적 규모의 대량 배양은 이루어지고 있지 않으며 재래식 연못 형태의 배양조에서의 소규모 배양에만 의존하고 있는 실정이다. 국내의 양식업계에서는 치어의 사료로 사용하고 있는 *Rotifer* 등의 동물성 플랑크톤의 먹이인 *Chlorella*를 매년 100억원 이상의 양을 농축액으로 일본으로부터 수입하고 있다. 또한, 대부분이 개방식 배양조로만 단세포 조류를 소량 생산하고 있기 때문에 협잡물이나 타 미생물에 의한 오염이 심하여 품질이 좋지 못하다. 그리고 배양조의 온도 조절이 불가능하여 일년 중의 일정 시기에만 집중적으로 배양하고 있고, 단위 배양 면적당의 생산성도 대단히 낮은 실정이며, 현지 어민들이 공정공학적 기술을 전혀 갖추고 있지 못하여서 현재의 배양조의 개량 또는 새로운 배양조의 개발 역시 전혀 이루어지지 않고 있다.

따라서, 본 연구진은 선진 독일 포츠담의 곡물가공연구소와 베를린 공대(TU Berlin)의 생물공학연구소를 방문, 미세조류 대량 배양조 개발 현황을 살펴보고, 공동연구를 통해 배양조를 개발함으로써 단세포 조류 배양조를 설계, 개발할 수 있는 기술을 축적하여 국내 실정에 알맞고 조작성이 간단한 배양조를 개발하고자 한다. 이를 위하여 소규모 배양조를 만들어 단세포 조류 배양에서의 각종 제어 인자들을 찾고, 그 결과를 여러 형태의 모형 배양조에 적용한 후, 실제 대량 배양이 가능한 규모와 형태로 scale-up시켜 배양조를 제작, 어민들에게 시험·공급하고자 한다. 현장에서의 적용성이 증명되면 업자에게 의뢰하여 대량 생산을 유도하고, 국내 공급은 물론 수출도 도모함으로써 불필요한 국고 손실을 야기하고 있는 *Chlorella* 수입을 국내 생산으로 대체시켜 양식 어민들의 양어 경비를 절감시키며, 기술을 이전받아 생산체계를 갖추는 어민들에게는 새로운 소득원을 확보할 수 있게 하고자 한다.

또한 계속적인 연구를 통하여 단세포 조류로부터 천연 색소, DHA, EPA와 같은 고도불포화지방산, 비타민, β -carotene 등의 고부가가치의 신기능성 소재를 획득할 수 있는 기틀을 마련하여 단세포 조류가 단순히 동물성 플랑크톤의 먹이라는 차원을 넘어서 생물신소재 공급원임을 어민들에게 인식시키고, 어민 스스로의 대량 배양을 통해 소득 증대를 꾀할 수 있도록 하고자 한다. 이와 같은 목적에서 미세 조류 대량 배양조를 개발하고자 한다.

제 2 장. 재 료 및 방 법

제 1 절. 배양조

제 1 항. Vertical tubular photobioreactor (VT-PBR)

VT-PBR의 전체적인 개략도를 Fig. 1에 나타내었다. 이 배양조는 batch type의 bubble column reactor 형태로 제작하였다. 전체적으로 빛 공급장치, 온도 제어장치, gas 공급속도 조절기, 그리고 glass vessel로 구성하였다.

빛 공급 장치는 시중에서 판매되는 3파장 램프 4개를 glass vessel의 주위에 10cm 간격으로 배치, 제작하였고, 점등하는 램프의 수에 따라 조도 (3000~20000lux)가 달라지도록 하였다. 항온 장치는 항온기(MO. MIR 152, SANYO, Japan)를 이용하여 배양 온도가 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 이내에서 제어되도록 제작하였다.

Gas 공급장치는 최대 체적유량이 4l/min인 air pump, CO₂ gas bombe, 2개의 flowmeter, 그리고 air/CO₂의 혼합공기를 만들기 위한 aspirator로 구성하였으며, 외부 오염을 최소화 하도록 각각의 입구에 air filter를 장착하였다.

Culture vessel은 직경 3.2cm, 높이 31cm로 멸균할 수 있도록 제작하였으며, 하부에 sparger를 장착하였다. sparger는 직경 1mm의 노즐형과 porous형 두가지를 사용하였다. Culture vessel의 윗 부분은 실리콘 패킹으로 완전 밀봉한후, 직경 5mm의 유리관을 사용하여 단세포조류의 광합성과 정에서 생기는 O₂ 및 잔여 비용해성 기체를 배출하도록 하였다.

제 2 항. Recirculating vertical cylindric photobioreactor (RVC-PBR)

RVC-PBR의 개략도는 Fig. 2에 나타내었다. 이 배양조는 빛 공급장치, 배양온도 제어장치, 가스 공급속도 조절기, 가스 교환기, 3개의 원통형

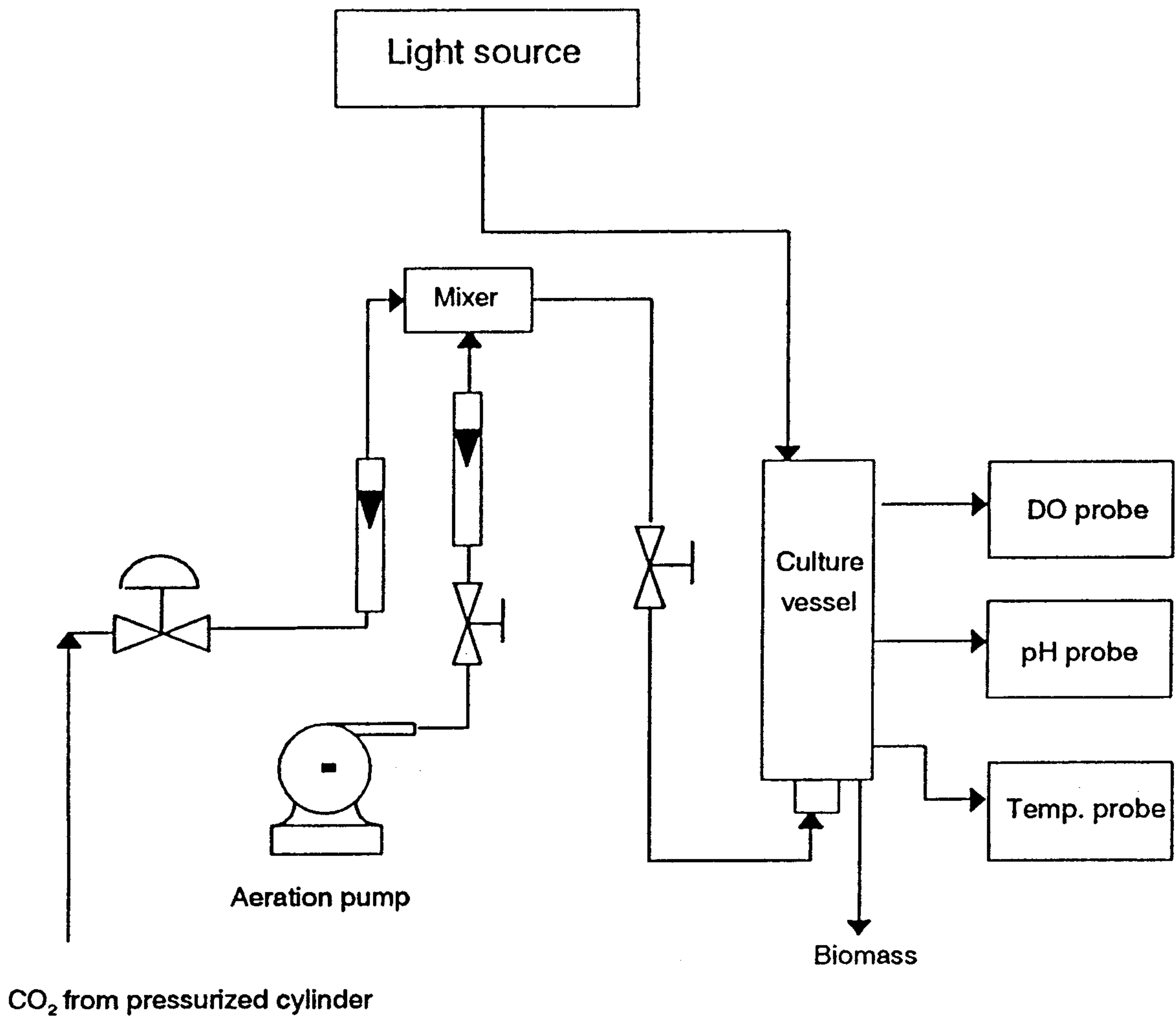


Fig. 1. Schematic diagram of vertical tubular photobioreactor(VT-PBR).

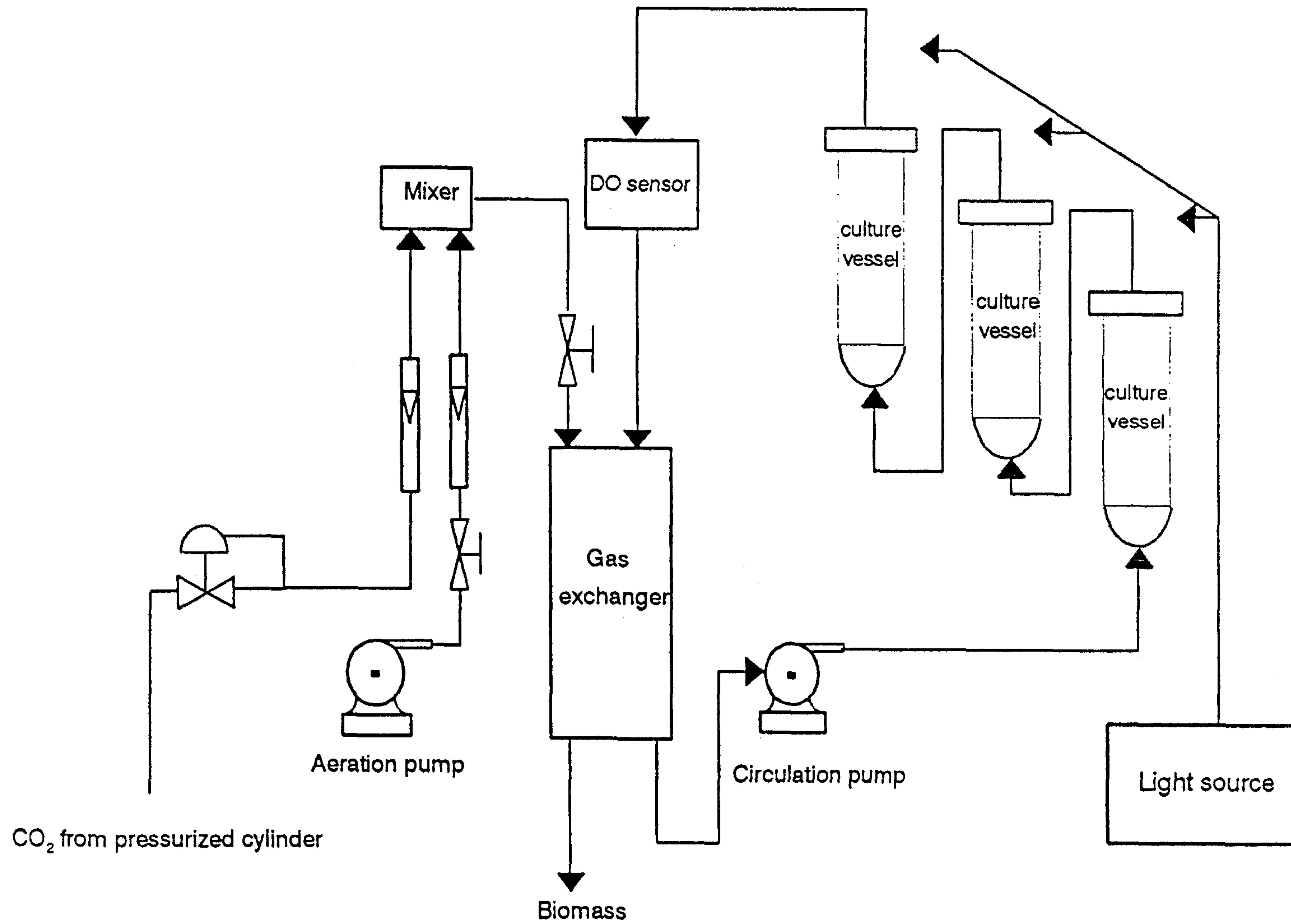


Fig. 2. Schematic diagram of recirculating vertical cylindrical photobioreactor in cascade(RVC-PBR)

vessel로 구성되었다.

배양액은 직경 9.8cm, 높이 31cm로 투명 아크릴로 제작된 3개의 원통형 vessel을 연결하여 순환되게 하였으며, 온도제어장치와 가스 공급속도 조절기 등은 앞에서 설명한 VT-PBR과 같이 구성하였다. 또한, 빛 공급장치는 자연광에 가까운 할로젠 램프를 사용하였으며(빛공급량 : 3,000~6,000lux), 가스 교환기 부분은 배양중에 발생한 산소를 제거하고, 이산화탄소를 공급하도록 제작하였다.

제 3 항. Semi-closed raceway pond type photobioreactor (SCR-PBR)

SCR-PBR의 개략도는 Fig. 3에 나타내었다. 이 배양조는 기존의 개방식 배양조를 개량한 형태로 아크릴을 사용하여가로 50cm, 세로 1m, 두께 5cm의 평판 모양으로 제작하였다. 즉, 이 배양조를 통하여 기존의 개방식 배양조가 고농도 배양시에 미세조류의 농도가 짙어질수록 빛의 투과도가 낮아져 빛을 제대로 받지 못하는 부분이 많아지는 단점과 개방에 따른 외부로부터의 오염과 수분의 증발이 심한 단점 등을 개선시켰다.

제 4 항. Plant cell photobioreactor (PC-PBR)

이 배양조는 단세포 조류의 배양조건을 신속하고 다양하게 조절할 수 있고, 자체멸균이 가능한 air-lift형 laboratory fermentor(Model KLF2000, Bioengineering사, Swiss)에 illumination jacket이 장착된 것으로서 그 개략도는 Fig. 4에 나타내었다.

전체적으로 pH controller, pO₂ indicator, illumination controller, gas mixing station으로 이루어진 control box와 배양조 및 배양조를 둘러싸고 있는 illumination jacket으로 구성되어 있다. 배양 온도의 조절은 자체 제작하여 배양조 외부에 장착시킨 저온 순환수조 및 배양조 자체에 장착된 가열기를 이용하여 조절되도록 구성하였다. 그리고 배양액 중의 pH와 용존산소의 농도는 digital signal로 표시하도록 구성하였으며, pH는 CO₂의 공급량에 따라 조절되도록 하였다.

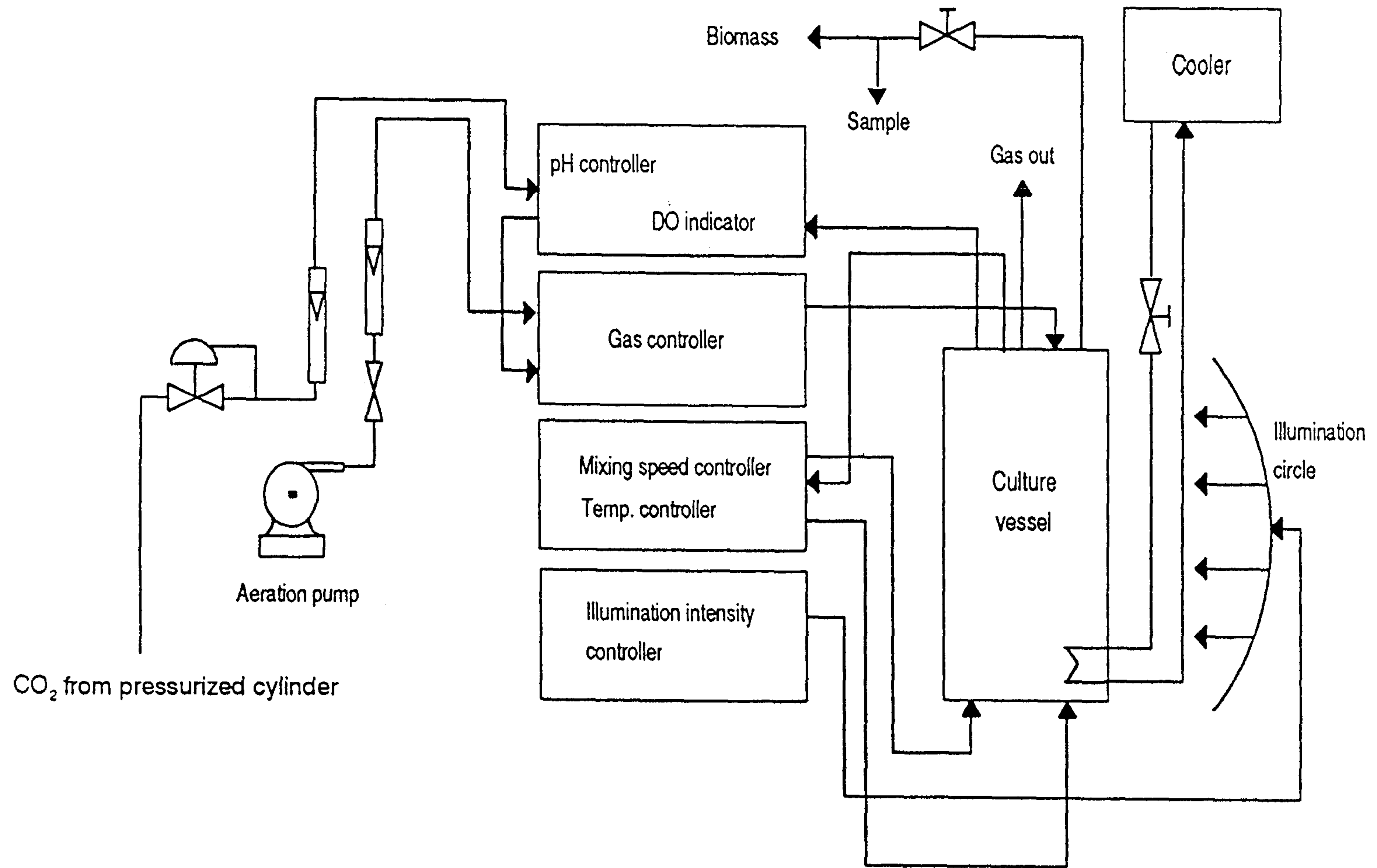


Fig. 3. Schematic diagram of plant cell photobioreactor (PC-PBR).

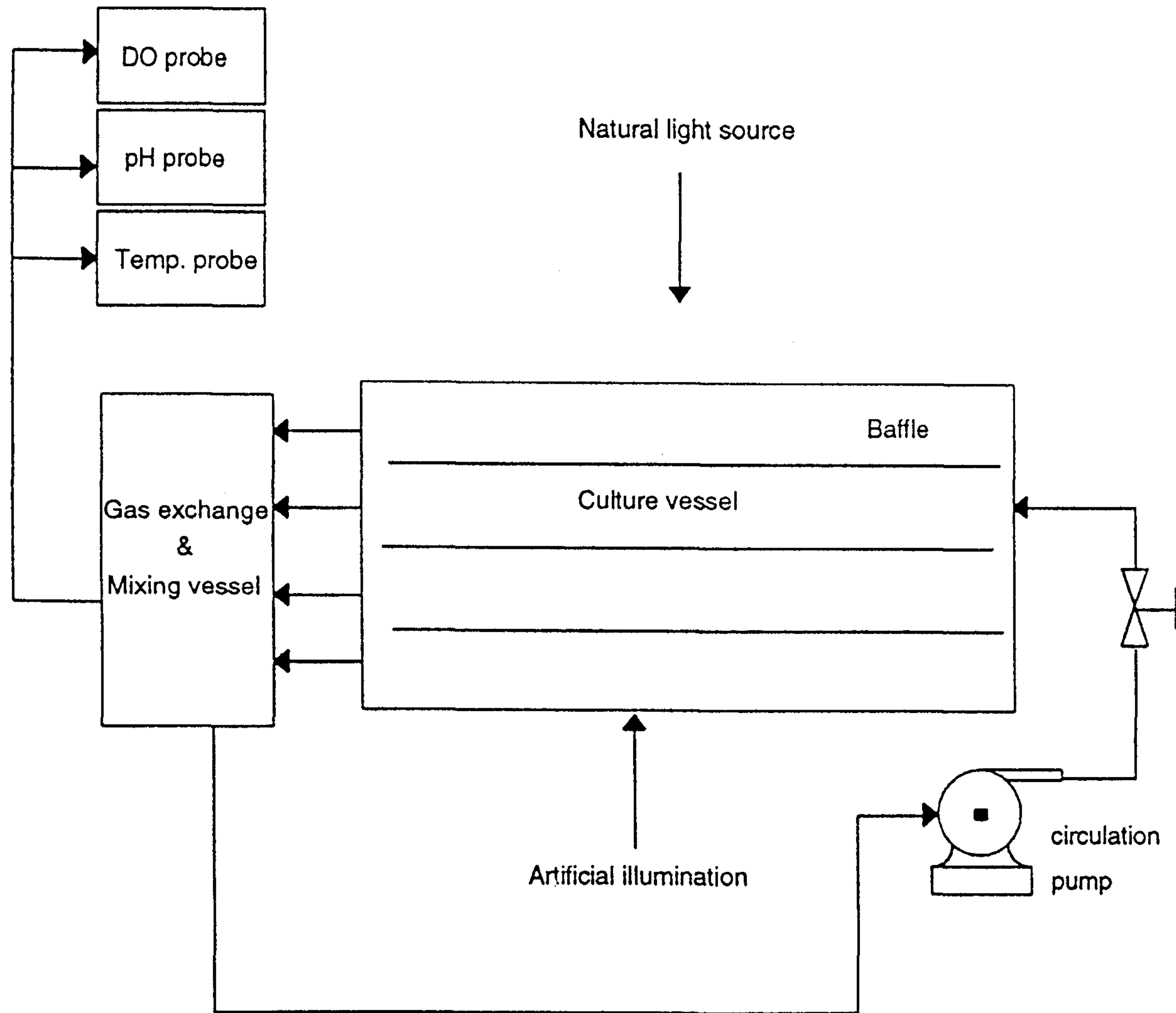


Fig. 4. Schematic diagram of semi-closed raceway pond type photobioreactor(SCR-PBR).

제 2 절. 실험 방법

제 1 항. 실험에 사용한 *Chlorella*

실험에 사용한 *Chlorella*는 국립수산진흥원 남해수산연구소 총무분소에서 어민들에게 공급하기 위하여 노천 배양하고 있는 해수산 *Chlorella* sp. 와 독일 Göttingen 대학 조류종자 보관소에서 분양받은 담수산 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 해수에 적응시켜 실험에 사용하였다.

제 2 항. 배양액

해수산 *Chlorella*의 배양액으로는 f/2배지(Guilard and Ryther, 1962)를 사용하였고, 그 성분 조성은 Table 1에 나타내었다. 배양액은 121.1℃에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

제 3 항. 세포수의 계수(Cell count)

매일 일정한 시간에 배양액 중 표면으로 부터 0.1mm 깊이의 배양액을 일정량 채취하여 혈구계측기를 사용하여 광학현미경으로 계수하였다. 이때 실험오차를 줄이기 위해 매번 5회 반복 계수하고 평균 세포수를 구하였다.

제 4 항. 실험 조건

*Chlorella*의 성장에 영향을 미치는 인자로는 온도, pH, CO₂ 농도, O₂ 농도, 조도 등을 들 수 있다. 이들 인자들에 의한 영향은 strain이나 배양조의 형태에 따라 달라지므로, 앞에서 설명한 4가지 형태의 배양조를 사용하여 위에 열거한 영향인자를 변화시키면서 최적 배양 조건을 구하였다.

온도에 따른 증식속도를 살펴보기 위하여 *Chlorella*를 18℃, 20℃, 25℃에서 각각 나누어서 배양하면서 비교실험을 행하였다.

CO₂ 공급 속도에 따른 배양액중의 pH변화를 살펴보기 위하여서는 RVC- PBR의 경우에는 일정량의 CO₂를 계속적으로 공급하면서 배양액중의 pH의 변화를 살펴보았으며, plant cell photobioreactor(PC-PBR, Model KLF 2000, Bioengineering사, Swiss)의 경우에는 pH controller를

Table 1. Composition of f/2-culture medium

Na_2SiO_3	0.06g	Na_2NO_3	0.15g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	0.896g	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaFe} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.01g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.022mg	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.011mg
Tiamine hydrochloride	0.02mg	$\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0196mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.044mg	$\text{Na}_2\text{MO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.012mg
Biotin	0.001mg	Vitamin B ₁₂	0.001 μg
Sea water	1l		

이용하여 배양액중의 pH의 변화에 따라 CO₂의 공급량을 조절하면서 pH 변화에 따른 *Chlorella*의 증식속도를 비교하였다.

용존산소 농도(pO₂)의 영향은 gas 교환기를 설치하였을 때와 배양조에 직접 공기를 주입하였을 때, 그리고 CO₂ 가스를 공급하였을 때로 구분하여 용존산소 농도와 증식속도를 비교하면서 O₂가 *Chlorella*의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 용존산소의 농도는 DO-meter를 이용하여 측정하였다.

*Chlorella*의 성장에 대한 조도의 영향을 살펴보기 위하여 각각의 배양조에 장착한 램프의 수를 달리하면서 조도를 조절함으로써 빛의 세기가 *Chlorella*의 성장 속도에 미치는 영향을 조사하였다. 이때 조도계는 東京鋼電의 luxmeter(ANA-F9, JAPAN)를 사용하였으며, Gas 공급량은 rotameter (RMA- 13-SSV, DWYERINC, U.S.A.)를 이용하여 조절하였다.

제 3 장. 결 과 및 고 찰

제 1 절. Vertical tubular photobioreactor (VT-PBR)의 제작과 설계 정보

제 1 항. 온도의 영향

최적 온도를 규명하기 위해 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.를 온도 17°C ~ 25°C 범위에서 10일 동안 배양하였을 때의 증식곡선을 Fig. 5에 나타내었다. 배양 중에 공기 공급속도는 배지에 대하여 2.78vvm, 조도는 20,000lux로 일정하게 유지되도록 하였다.

최대 비증식속도 μ_{max} 는 17°C에서는 $0.13day^{-1}$, 20°C에서는 $0.18day^{-1}$, 그리고 25°C에서는 $0.15day^{-1}$ 였다. 그러므로 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소 *Chlorella* sp.의 최적 증식 온도는 20°C로 판단되었다.

제 2 항. 공기 공급속도의 영향

공기 공급속도의 변화에 따른 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.의 비증식속도 변화를 알아 보기 위하여, air pump로 부터 배양조에 공급되는 공기의 속도를 배지에 대하여 0.56, 1.67, 2.78, 5.56 및 8.33vvm로 달리하였을 때의 비증식속도를 비교하였다. 이 때 배양 온도는 20°C, 조도는 20,000lux로 동일하게 유지하였다.

공기의 공급속도가 느릴수록 cell 농도와 μ_{max} 가 커지는 경향을 보인 반면, 공기의 공급속도가 빠를수록 cell 농도와 μ_{max} 가 낮은 값을 나타내었다(Fig. 6). 본 연구에서 설정한 조건 중에서 최적 공기 공급유량은 0.56vvm였으며, 이때의 μ_{max} 는 $0.31day^{-1}$ 였다. 그러나 배양 초기 3일까지의

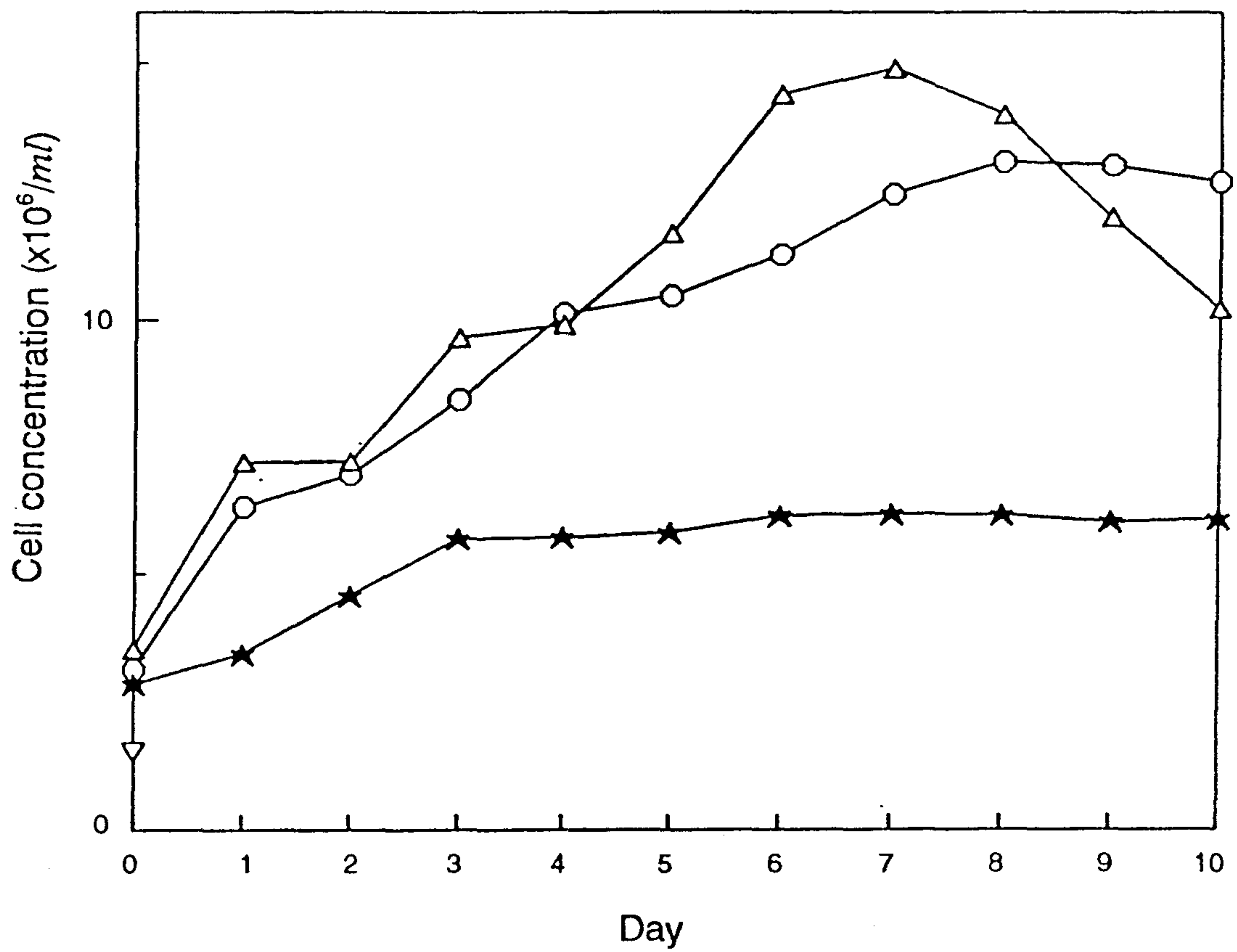


Fig. 5. Growth curves in VT- PBR at different culture temperatures.
 Illumination intensity : 20,000 lux, Air flow rate : 2.78 vvm
 ★ : 17°C △ : 20°C ○ : 25°C

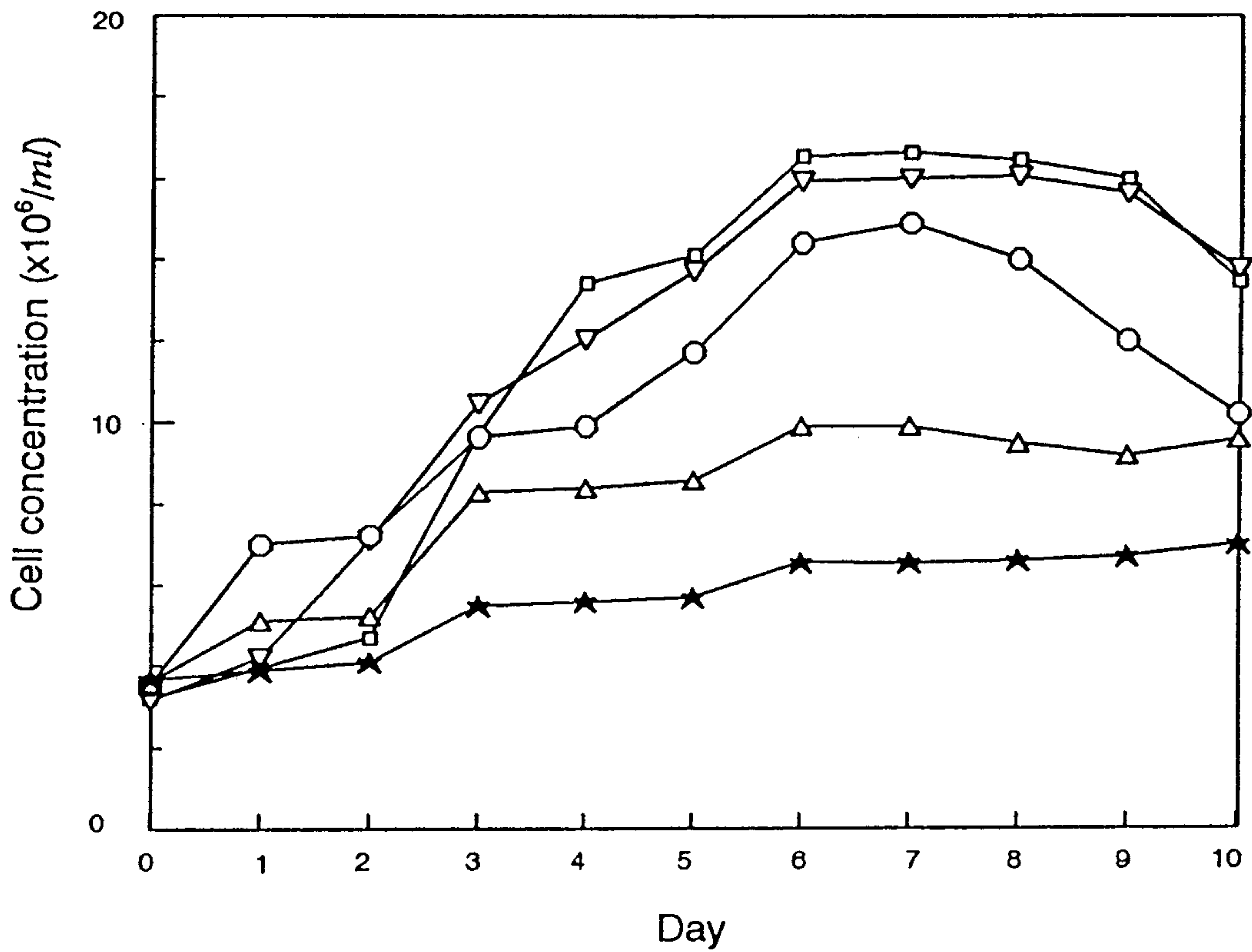


Fig. 6. Growth curves in VT- PBR with different air flow rates.

Temp. : 20°C, Illumination intensity : 20,000 lux.

□ : 0.56 vvm ▽ : 1.67 vvm ○ : 2.78 vvm

★ : 5.56 vvm △ : 8.33 vvm

배양과정에서는 공기 공급속도가 0.56vum일 때보다 1.67vum 및 2.78vum일 때에 배양액 중의 *Chlorella*의 농도가 높았다. 이러한 현상은 공기의 공급속도가 클 때에 상대적으로 많은 양의 공기중의 CO₂가 배양액 중에 용해되기 때문에 *Chlorella* sp.의 성장이 빨랐으나, 배양 3일 이후부터는 *Chlorella* sp.가 성장하면서 산소를 배출하기 시작하므로 배양액 중의 용존산소의 농도가 매우 높아지기 때문으로 생각되었다(Weissman et al., 1987).

이와 같은 비증식속도의 차이가 용존산소의 농도에 의한 저해 때문인지를 알아 보기 위하여, 배양액 중으로의 산소의 용해가 큰 porous형 sparger와 산소의 적은 nozzle형 sparger를 사용하였을 때의 *Chlorella* sp.의 비증식속도를 비교하였다.

그 결과 산소의 용해가 적은 nozzle형 sparger를 사용하였을 때 μ_{mzx} 와 *Chlorella* sp. 농도가 더 큰 값을 나타내었다(Fig. 7). 그러나 이 때에도 배양 초기 2일째까지는 porous형 sparger를 사용하였을 때에 cell 농도가 약간 높았다.

제 3 항. 조도의 영향

조도에 따른 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.의 성장속도 변화를 관찰하기 위하여, 온도 20°C에서 gas flow rate를 배지에 대해 0.56vum으로 동일하게 하고 조도 6,000~20,000lux의 범위에서 12일 동안 배양하였다. 조도 15,000lux와 20,000lux의 조건에서는 초기 *Chlorella* sp.의 농도를 각각 2.8×10^6 cells/ml 및 3.2×10^6 cells/ml로 하였고 6,000lux 및 10,000lux의 조건에서는 1.55×10^6 cells/ml로 하였으며, 그 결과는 Fig. 8에 나타내었다.

조도 6,000lux에서 μ_{mzx} 가 0.34 day^{-1} 로서 *Chlorella* sp.의 증식이 가장 빨랐으나, 조도가 아주 큰 경우에는 증식이 빠르지 않았다. 그 이유는 조도가 너무 클 경우 오히려 photosynthetic receptor system PS II가 손상을 입음으로써 광선이 오히려 증식저해(photoinhibition)를 일으키기 때문으로 생각되었다(Stryer, 1987).

또한, 조도가 6,000lux보다 낮은 경우에는 광합성에 필요한 광자가 충분히 공급되지 않아서 *Chlorella*의 성장율이 낮아진다고 보고되어 있기도 하

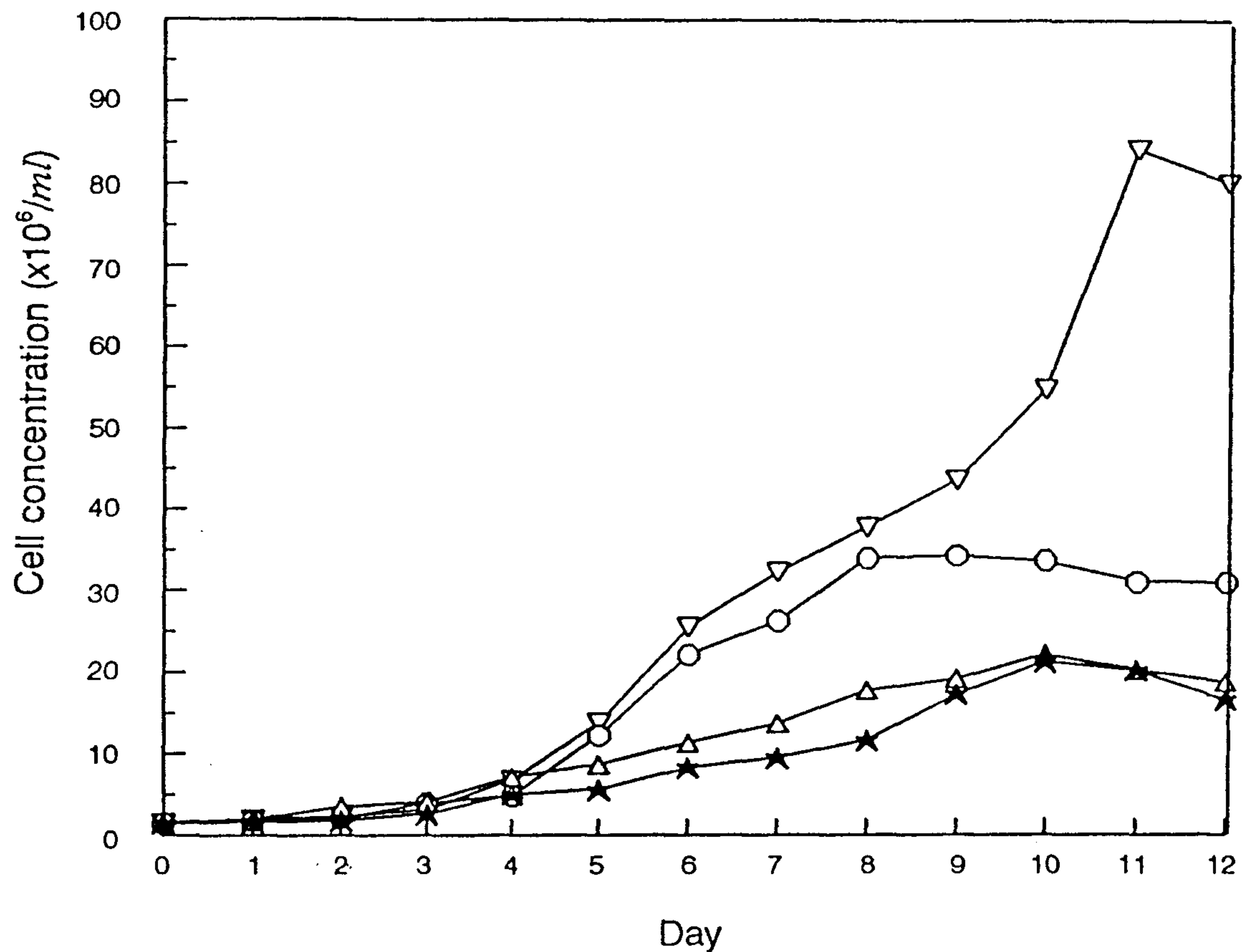


Fig. 7. Growth curves in VT- PBR with different types of sparger and illumination intensities.

Temp. : 20°C, Air flow rate : 0.56 vvm

○ : Nozzle type sparger, 10,000 lux

▽ : Nozzle type sparger, 6,000 lux

★ : Porous type sparger, 10,000 lux

△ : Porous type sparger, 6,000 lux

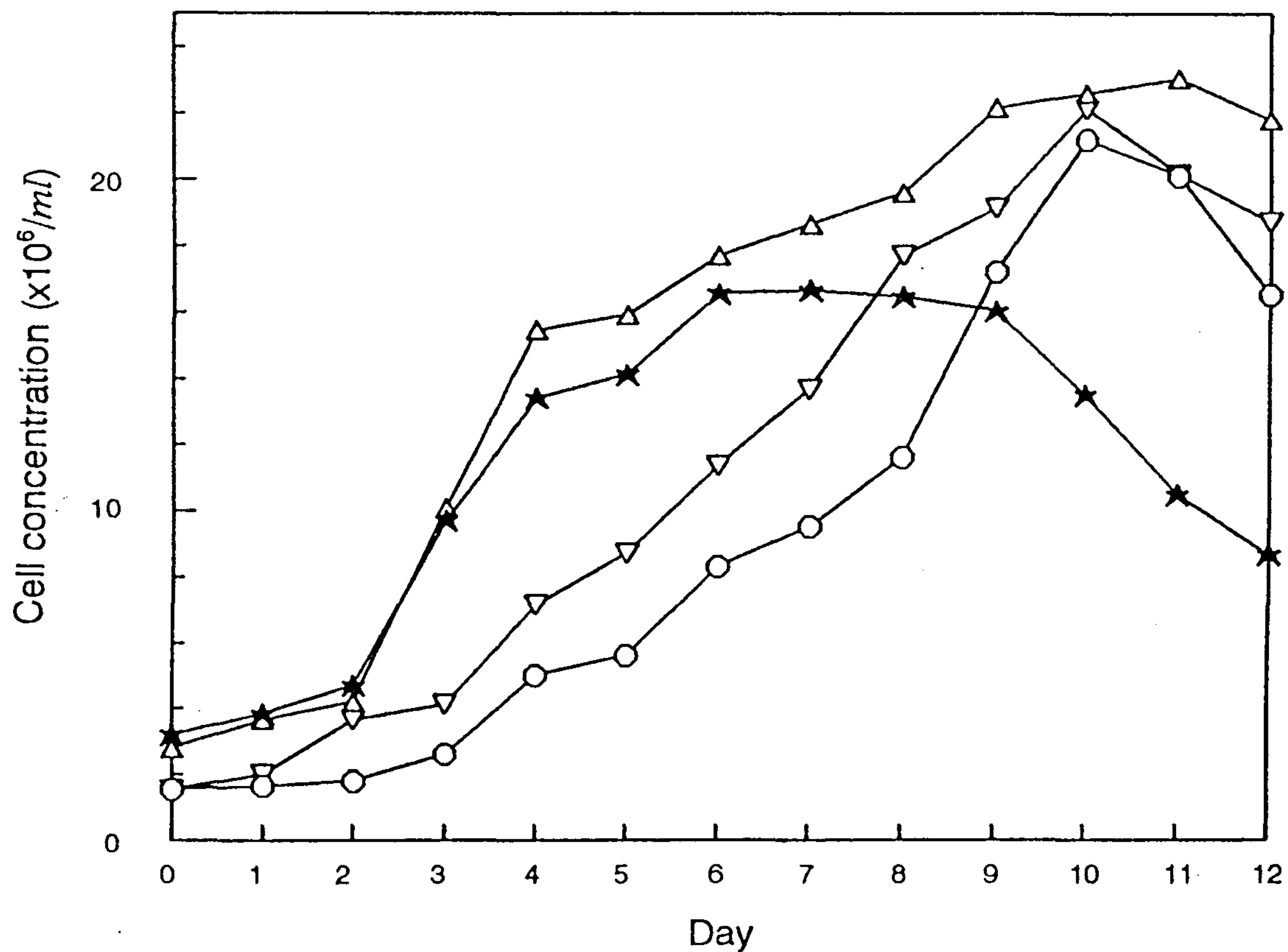


Fig. 8. Growth curves in VT- PBR with different illumination intensities

Temp. : 20°C, Air flow rate : 5.56vvm

★ : 20,000 lux ○ : 15,000 lux

▽ : 10,000 lux △ : 6,000 lux

다. 이러한 실험 결과들로 미루어 보아 *Chlorella* sp. 배양에서의 최적 조도는 $6,000\text{lux}$ 정도로 판단되었다.

제 4 항. CO₂의 영향

배양액 중의 CO₂의 농도 즉, CO₂ 공급 속도가 *Chlorella* sp.의 비증식속도에 미치는 영향을 알아 보기 위해, 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp. 배양 배지에 CO₂ 공급속도를 0.028vvm , 0.056vvm 및 0.083vvm 으로 달리하여 배양하였을 때의 최대 비증식속도 μ_{\max} 를 비교하였다. 이때 CO₂는 아스피레이터를 이용하여 0.56vvm 의 속도로 공급되는 공기와 혼합하여 공급하였고, 배양 온도는 20°C , 조도는 $6,000\text{lux}$ 로 하였다.

그 결과를 보면, CO₂ 공급량이 가장 적은 0.028vvm 의 경우에도 배양액의 pH가 5.0 이하로 낮아져 *Chlorella* sp.는 거의 성장하지 못하거나, 농도가 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 9). 그러므로 *Chlorella* 배양중의 CO₂의 공급량은 배양액의 pH를 떨어뜨리지 않는 범위 내에서 조절되어야 함을 알 수 있었다.

이상에서와 같이 VT-PBR을 이용하여 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.를 배양하였을 때의 최적 조건은 온도는 20°C , 조도는 $6,000\text{lux}$, 공기 공급속도는 배지에 대하여 0.56vvm 이었고, sparger는 nozzles형이 효과적이었다. 그리고 VT-PBR은 체적에 대한 표면적의 비(S/V)가 커서 cell의 농도가 높아지더라도 빛이 충분히 공급되어 cell이 고농도에 이를 수 있는 장점이 있었으나, 배양 용량이 너무 작아서 소량의 CO₂를 공급하여도 배양액의 pH가 낮아지기 때문에 *Chlorella* sp.의 증식이 비효과적인 단점이 있었다.

VT-PBR을 scale-up시킬 때 S/V를 크게 유지하려면 관형으로 제작하여야 한다. 그러나 관형 배양조의 경우에는 내부 aeration이 불가능하고 산

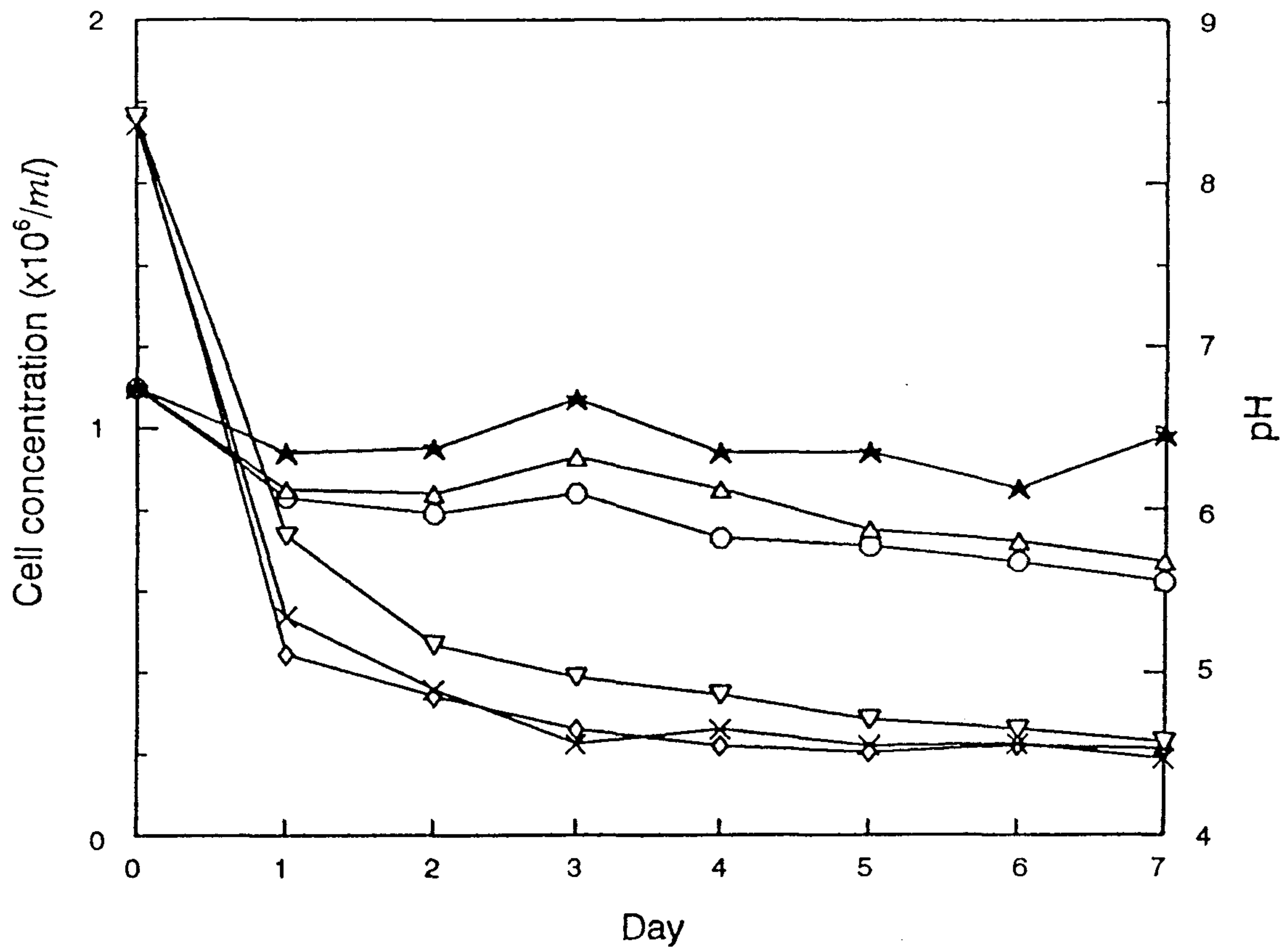


Fig. 9. Growth curves and changes of pH in VT-PBR with different CO₂ supply conditions.

Temp. : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Air flow rate : 0.56 vvm

Growth curves : ★ : CO₂ 0.028 vvm

△ : CO₂ 0.056 vvm

pH curves : ○ : CO₂ 0.083 vvm

▽ : CO₂ 0.028 vvm

× : CO₂ 0.056 vvm

◇ : CO₂ 0.083 vvm

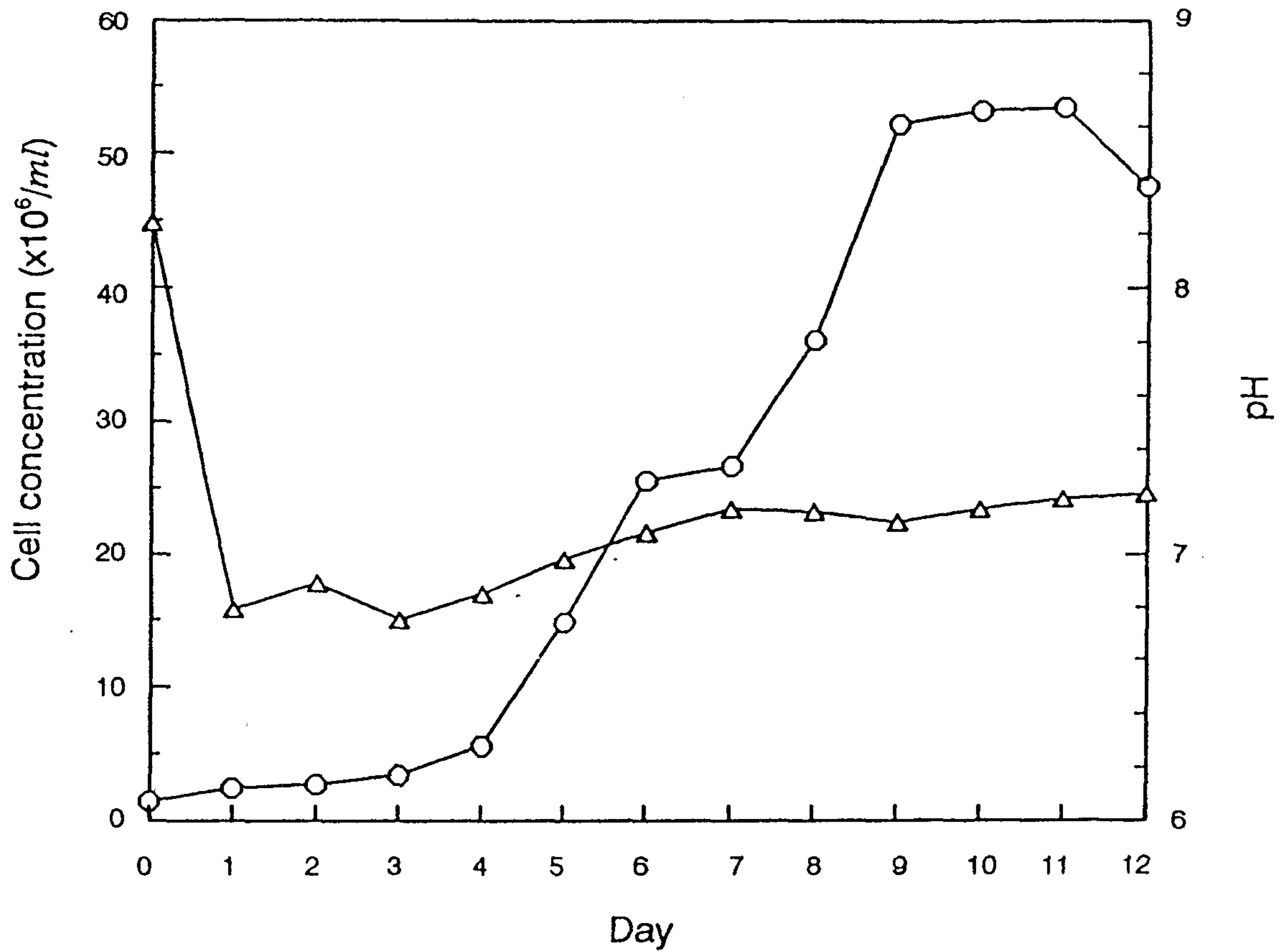


Fig. 10. Growth curves and changes of pH in RVC-PBR in cascade

Temp. : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Air flow rate : 0.75vvm, CO₂ supply : 0.625 x 10⁻³vvm

○ : Cell concentration Δ : pH

소의 축적이 매우 높아지는 단점이 파악되었고, VT-PBR의 경우cultivation volume이 작아서 최적 CO₂ 농도를 찾기 어려운 문제점도 지적되었다.

제 2 절. Recirculating vertical cylindric photobioreactor (RVC-PBR)의 제작과 설계 정보

VT-PBR의 단점들을 개선하기 위하여 gas 교환기를 제작, 부착시켜 cultivation volume을 크게한 RVC-PBR을 제작하여 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.를 해수배지에서 배양하면서 CO₂ 농도의 영향과 gas 교환기의 효과를 조사하였다. 이 때 배양온도와 조도, 그리고 공기 공급속도는 VT-PBR에서 얻은 결과를 적용하였다.

제 1 항. CO₂ 농도의 영향

CO₂ 공급속도가 비증식속도에 미치는 영향을 알아보기 위해, 배양액에 대하여 $0.625 \times 10^{-3} vvm$ 의 CO₂와 $0.75 vvm$ 의 공기를 혼합하여 공급하면서 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.를 배양하였다. 이 때 배양 온도는 20°C, 조도는 6,000lux로 일정하게 유지하였다.

그 결과, 초기 배양 3일째까지는 증식속도가 매우 느리다가 배양 5일째 부터 증식이 급속히 빨라졌다(Fig. 10). 이러한 결과는 pH 변화 때문으로 생각되었다. 즉, 배양 초기에는 CO₂의 공급으로 인하여 pH가 7.0 이하로 낮아진 상태에서 느린 속도로 증식이 진행되다가, 배양이 진행됨에 따라 pH가 7.0 이상으로 높아진 5일째 부터 증식이 빠르게 진행되었다. 이 때의 최대 비증식속도 μ_{max} 는 $0.46 day^{-1}$ 였다. 이로 부터 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.는 배양 적정 pH가 적어도 7.0 이상이어야 한다는 것을 알 수 있었다.

CO₂ 공급량을 달리 하였을 때의 *Chlorella* sp.의 증식속도 변화와 pH

변화와의 관계를 알아보기 위하여 배양온도와 조도는 20℃, 6,000lux로 하고, 배양 첫날에는 배지에 대하여 CO₂와 공기의 혼합비를 0.625×10⁻³vvm과 0.75vvm로 하여 공급하다가, 배양 5일째 부터 CO₂ 공급속도를 0.375×10⁻³vvm으로 감소시켰으며, 그 결과는 Fig. 11에 나타내었다.

CO₂ 공급속도를 0.625×10⁻³vvm으로 하였을 때는 *Chlorella* sp.의 농도가 감소하거나 증식하지 않았다. 그러나 CO₂ 공급속도를 0.375×10⁻³vvm으로 줄였을 때는 *Chlorella* sp.의 농도가 급속히 증가하기 시작하였다. 전자의 경우에는 pH가 5.81~6.78 사이였고, 후자의 경우에는 pH가 6.92~7.70 사이였으며, 특히 pH 7.2~7.5 사이에서 증식이 가장 왕성하였다.

CO₂를 0.375×10⁻³vvm의 속도로 공급하였을 때는 μ_{max} 가 0.56day⁻¹로서 앞의 여러 배양조건 중에서 가장 높은 값을 나타내었다. 그러므로 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소 *Chlorella* sp.의 배양 최적 pH는 7.2~7.5로 판단되었다. 이러한 결과는 배양조에 잘 부착하지 않는 *Chlorella*를 배양하는 경우에는 pH를 7.3±0.2 범위로 조절하였을 때 증식속도가 가장 빨랐다는 Weissman et al.(1987)의 보고와 잘 일치하였다. 이상의 실험결과로부터 *Chlorella* sp. 배양을 위한 PBR의 설계에 있어서 CO₂ gas는 pH 조절과 연계하여 공급되도록 설계하여야 한다는 것을 알 수 있었다.

제 2 항. Gas 교환기의 영향

Gas 교환기 부분에서의 산소 제거 효과를 알아 보기 위하여, 교환기 부분의 용존산소 농도와 펌프를 통해 순환되는 배양조 끝부분에서의 용존산소 농도를 측정 비교한 결과를 Fig. 12에 나타내었다.

Chlorella sp.의 배양 초기에는 교환기 부분과 배양조 끝 부분에서의 용존산소의 농도가 거의 차이를 보이지 않았다. 그러나 *Chlorella* sp.의 농도가 증가함에 따라 배양조 내에서 이들이 광합성을 하면서 발생시키는 산소의 농도가 높아져서, 배양조에서 gas 교환기로 나가는 배양액 중의 용존산

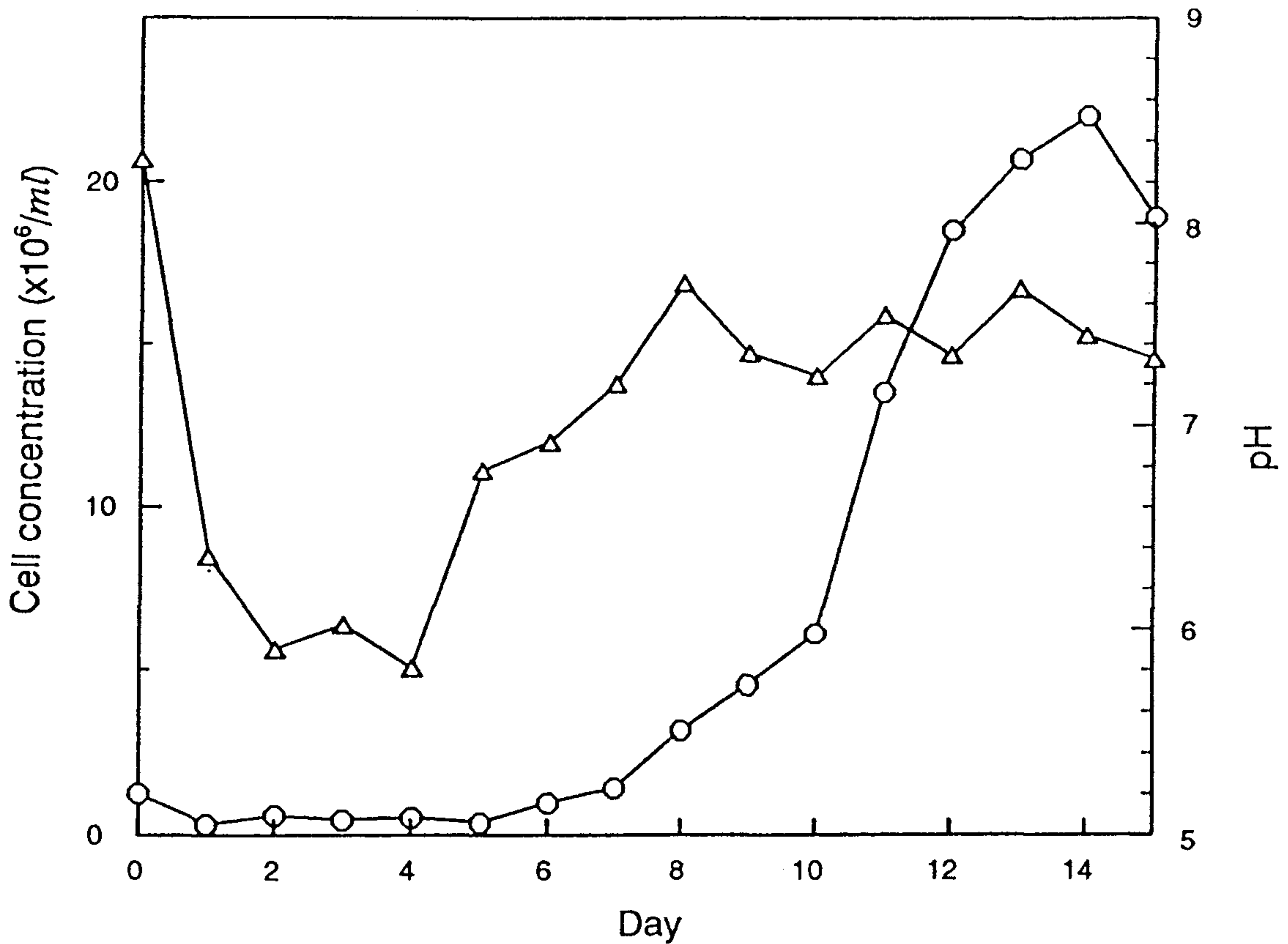


Fig. 11. Growth curves and changes of pH in RVC-PBR in cascade.

The amount of CO₂ supply was reduced from $0.625 \times 10^{-3} \text{vvm}$ to $0.375 \times 10^{-3} \text{vvm}$ at 5th day.

Temp. : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Air flow rate : 0.75 vvm,

○ : Cell concentration Δ : pH

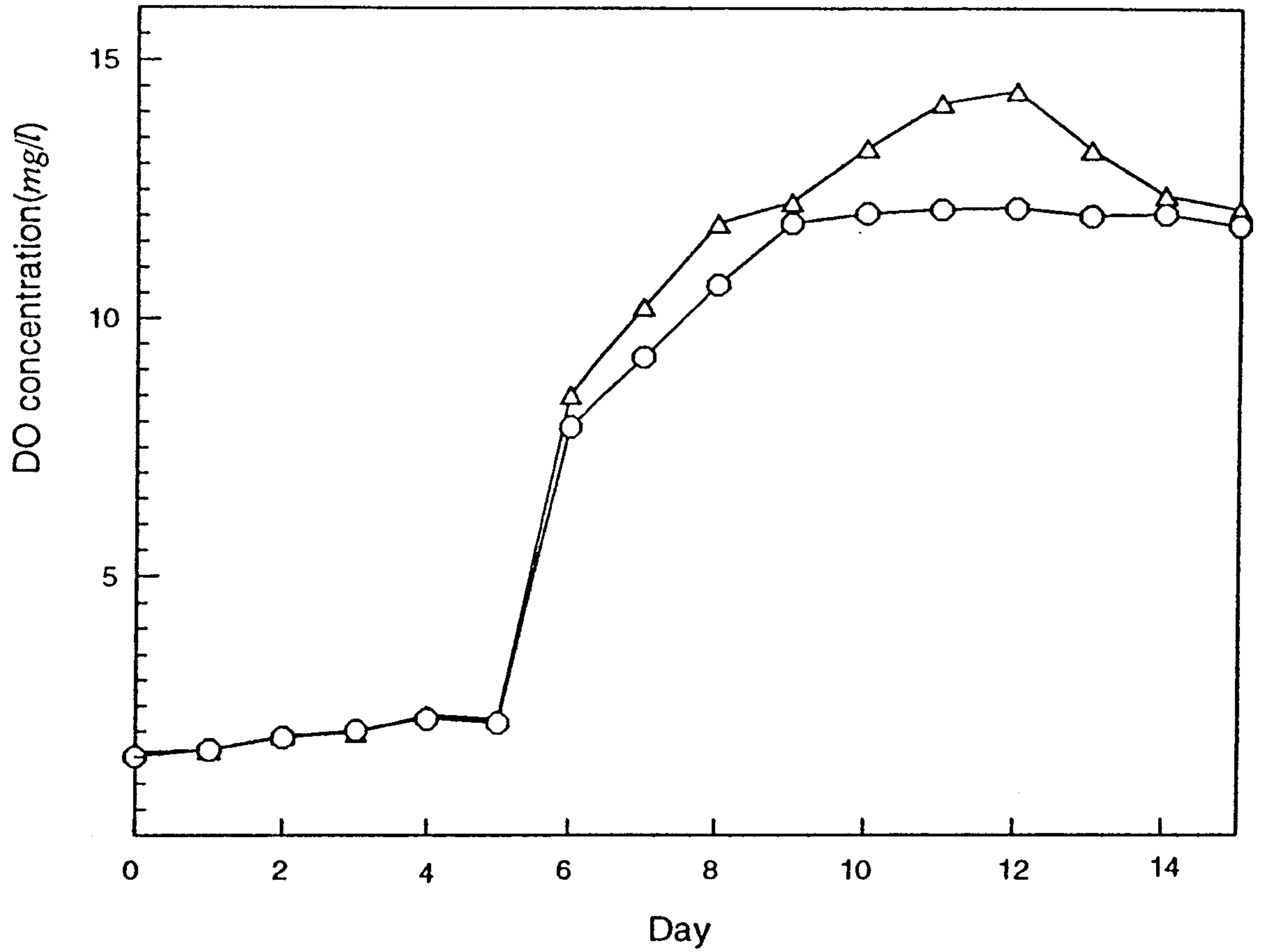


Fig. 12. Changes of DO concentration in gas exchanger and at the end of culture vessel RVC-PBR in cascade.

○ : Gas exchanger

△ : The end of cultivation vessel

소 농도가 높아짐을 알 수 있었으며, 본 실험에서 제작, 사용한 gas 교환 기로는 최대 $0.22 \times 10^{-2} \text{vvm}$ 의 산소 제거 효과를 얻을 수 있었다.

배양조 내부에서 직접 aeration하지 않는 순환식, 관형 및 판형으로 배양조를 제작하는 경우, 배양조의 규모가 작은 소규모 배양에서는 산소 축적에 의한 증식 저해가 작다고 한다. 그러나 대규모 배양에 있어서는 산소 축적이 최대 0.1vvm 에 까지 이를 수가 있어서 배양을 저해하는 가장 큰 요소중의 하나로 작용하기 때문에, 산소 제거 장치의 고안은 scale-up을 고려할 때 중요한 설계인자로 인식되어야 한다(Weissman et al., 1987).

RVC-PBR을 이용한 남해수산연구소의 *Chlorella* sp.의 배양 결과를 종합하면, 최적 CO_2 공급속도는 배지에 대하여 약 $0.38 \times 10^{-3} \text{vvm}$, pH는 7.2 ~ 7.5였고, gas 교환기의 채택은 산소제거에 효과적이었다. RVC-PBR의 장점으로서는 gas 교환기 채택에 따른 aeration에 필요한 동력비의 절감, 배양액에 축적된 산소의 효과적 제거, 배양액의 순환에 의한 cell의 침전 방지 등을 들 수 있다. 그리고 CO_2 의 공급으로 VT-PBR에서보다 상대적으로 높은 비증식속도에 도달할 수 있었다.

그러나 RVC-PBR은 체적에 대한 표면적의 비(S/V)가 41m^{-1} 로서 VT-PBR보다 상대적으로 작아서 cell의 최대 농도가 $5.2 \times 10^7 \text{cells/ml}$ 정도였다. 또한 gas 교환기에서 CO_2 를 공급할 때 대기중으로 방출되는 CO_2 양이 많아서 배양 단가를 상승시키는 요인이 될수 있었고, 일정한 pH의 조절이 어려웠다.

제 3 절. Plant cell photobioreactor (PC-PBR)의 제작과 설계 정보

RVC-PBR의 단점들을 개선하기 위하여, CO_2 의 공급속도 조절과 그에

따른 pH의 조절이 가능한 air-lift형 laboratory fermentor(Model KLF2000, Bioengineering사, Swiss)를 개조하여 *Chlorella*의 배양에 응용하였다. *Chlorella*는 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 해수산 *Chlorella* sp.와 독일 Göttingen 대학에서 분양받은 *Chlorella vulgaris* 211-11b를 사용하였으며, 해수산 *Chlorella* sp.는 20°C, *Chlorella vulgaris*는 25°C에서, 그리고 조도 6,000lux하에 1,000rpm으로 교반하며 배양하였다.

제 1 항. 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소 *Chlorella* sp.의 배양.

공기 즉, O₂의 공급 여하에 따른 batch type 배양조에 있어서의 용존산소 농도의 변화를 살펴보기 위하여 공기를 공급하지 않고 조도 6,000lux, 배양 온도는 20°C로 하여 *Chlorella*를 배양하였다. 이 때 사용된 *Chlorella*는 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella*였다. 그리고 공기를 공급하지 않음으로써 발생하는 *Chlorella*의 침전을 막기 위하여 impeller를 이용하여 1,000rpm으로 회전시키며 충분히 교반하였다.

배양액에 대하여 CO₂를 0.2×10⁻²vvm의 속도로 공급하다가, 배양 6일째 부터 pH controller를 이용하여 배양액의 pH가 7.0로 고정되도록 CO₂ 공급 속도를 조절하였을 때의 결과를 Fig. 13에 나타내었다.

이 배양 조건에서도 역시 배양액에 대하여 CO₂를 0.2×10⁻²vvm으로 공급했을 때 pH가 5.45까지 낮아졌고, *Chlorella* sp.의 증식은 거의 볼 수 없었다. 그러나 CO₂ 공급을 중단한 5일째 부터는 하루만에 pH가 7.05까지 상승하고 *Chlorella* sp.의 증식이 시작되었으며, 이 때 부터 배양액의 pH가 7.0 정도로 유지되도록 CO₂를 공급함으로써 *Chlorella* sp.의 증식도 급격하게 진행되었다.

이 결과로 부터 CO₂의 용해에 따라 배양액의 pH가 감소하며, *Chlorella* sp.

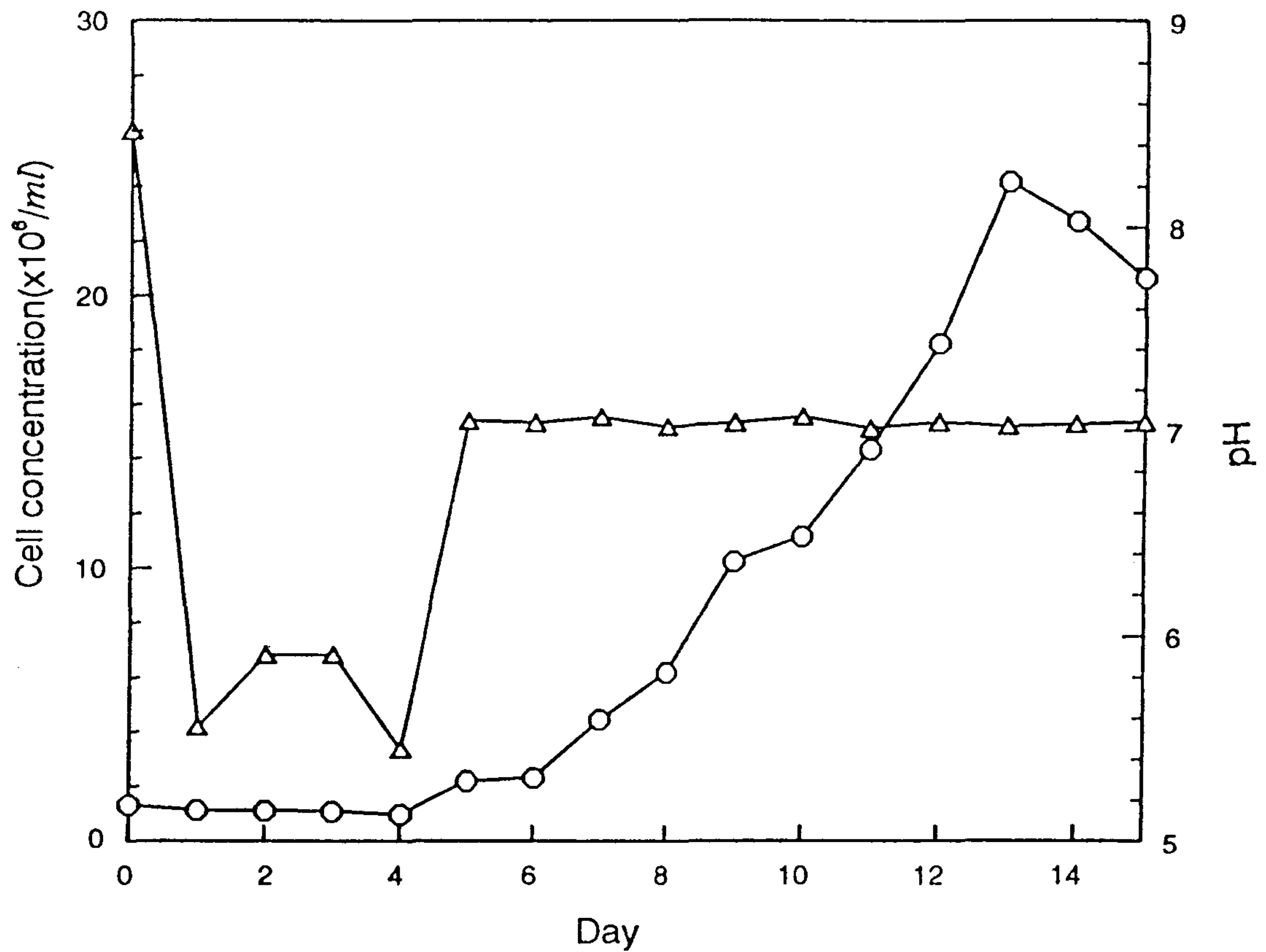


Fig. 13. Growth curves and changes of pH in PC-PBR
 CO_2 supply was controlled from 0.2×10^{-2} vvm
to maintain pH 7.0 at 5th day.

Temp. : $20^\circ C$, Illumination intensity : 6,000 lux

Impeller speed : 1,000 rpm.

o : Cell concentration

Δ : pH

가 광합성을 일으키는데 필요한 CO₂의 양은 pH와 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다.

RVC-PBR의 경우 pH 7.2~7.5 사이에서는 *Chlorella* sp.의 비증식속도가 0.56day⁻¹였으나, PC-PBR의 경우 pH 7.0 부근에서의 비증식속도가 0.47day⁻¹로서 오히려 낮은 비증식속도를 나타내었다. 그러므로 *Chlorella* sp.는 적정 pH에서 요구되는 CO₂ 공급량을 충족시킬 때 최대 비증식속도에 도달할 수 있음을 알 수 있었다.

Fig. 14에는 배양 4일째와 5일 사이의 용존산소의 농도 변화를 시간별로 나타내었다. 증식 조건이 부적당하여 호흡작용이 활발하게 진행되면서 용존산소의 농도는 감소하다가, pH가 7.0 정도로 조절되었을 때 *Chlorella* sp.가 왕성하게 증식하면서 광합성 과정에서 생산된 산소로 인하여 배양액 중의 용존산소 농도가 급격히 증가하여 최대 0.0147 vvm으로 까지 축적된 것으로 생각되었다.

Fig. 15에는 배양액 중의 용존산소 농도의 변화를 나타내었다. 배양 초기의 1~5일 사이에는 용존산소의 농도가 감소하는 것이 관찰되었는데, 이때 pH는 5.0~6.0 사이여서 *Chlorella* sp.가 거의 증식하지 않았고 오히려 그 농도가 약간 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

PC-PBR에서 축적된 용존산소의 최대 농도는 공기에 의해 포화된 염분 배지의 용존산소 농도인 약 0.7×10^{-2} vvm의 두배에 달하는 과포화상태로서, Weissman et al.(1987)은 포화공기 이상으로 산소가 축적될 때 산소는 오히려 증식에 저해를 일으킨다고 보고하였다.

제 2 항. *Chlorella vulgaris*의 배양

배양액의 pH를 7.0과 7.5로 유지되도록 하고 *Chlorella vulgaris*를 배양

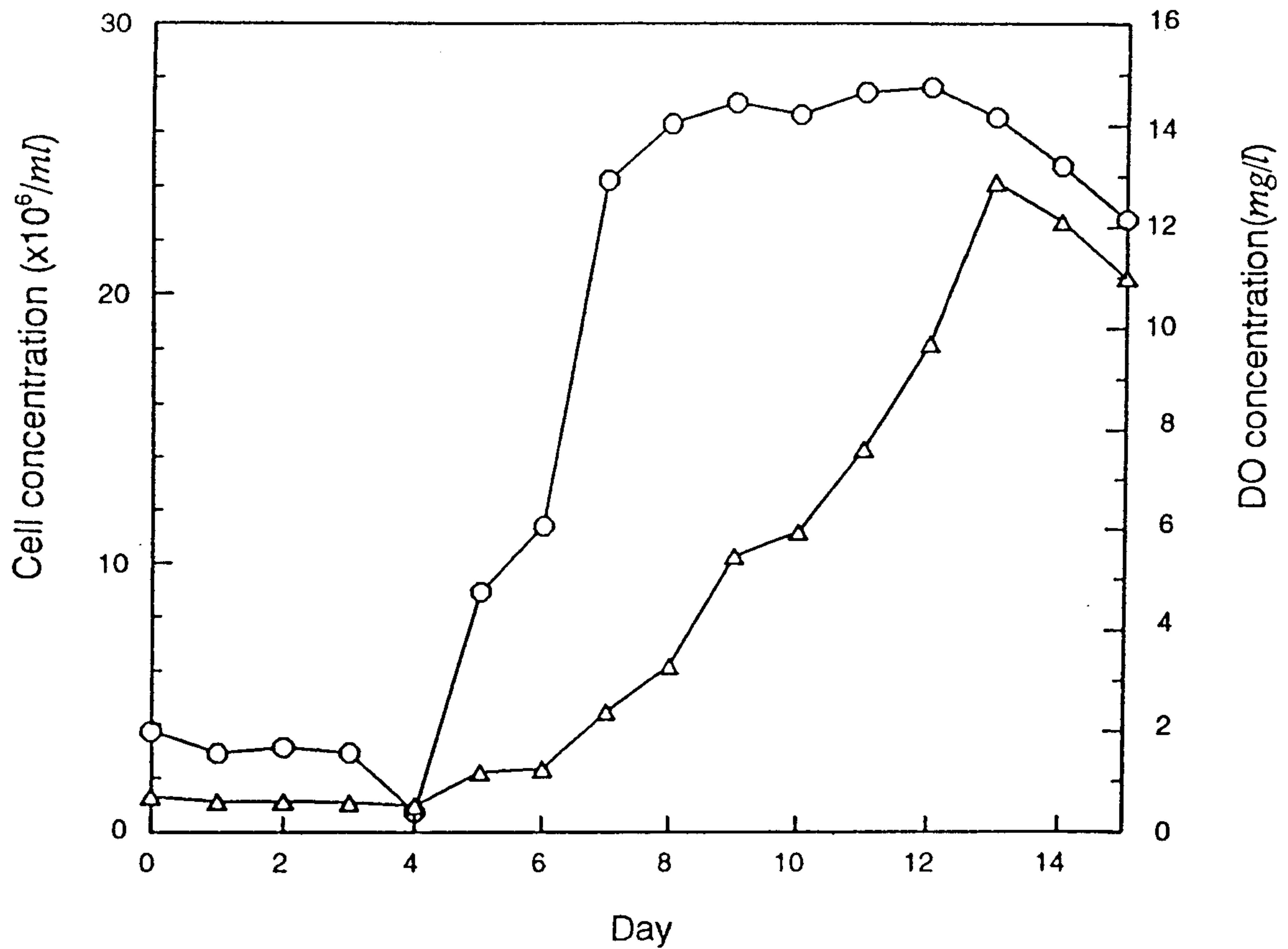


Fig. 14. Growth curves and changes of DO concentration in PC-PBR.

CO₂ supply was controlled $0.2 \times 10^{-2} vvm$ to maintain pH 7.0 at 5th day.

Temp. : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux

Impeller speed : 1,000 rpm.

Δ : Cell concentration

○ : DO concentration

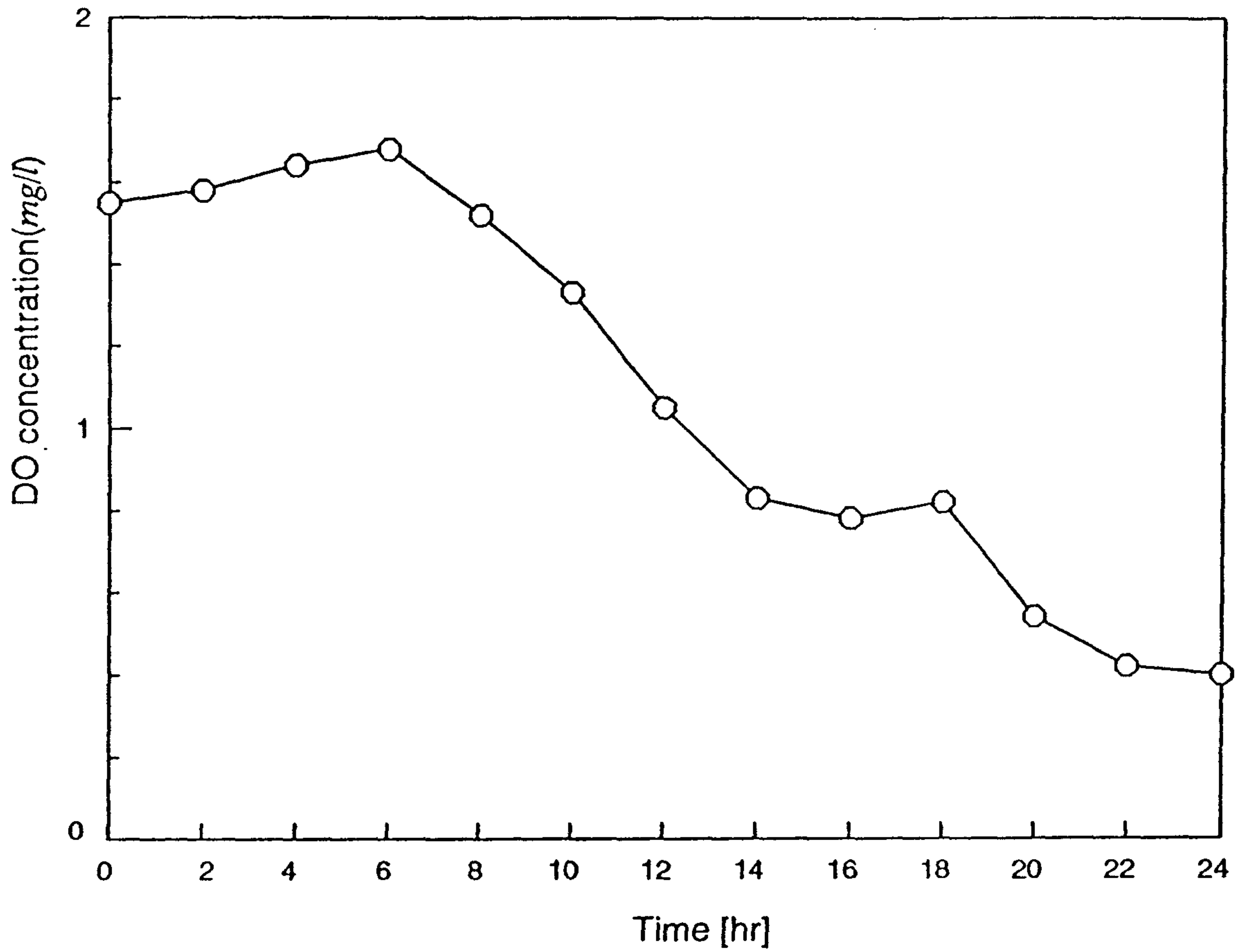


Fig. 15. Change of DO concentration in PC-PBR during one day without aeration. Temp. : 20°C, Illumination intensity : 6,000 lux
Impeller speed : 1,000 rpm

하였을 때의 비증식속도 변화를 Fig. 16에 나타내었다. 이 때 배양 온도는 25℃, 조도는 6,000lux, 교반속도는 1,000rpm이었으며, 공기는 공급하지 않았다.

*Chlorella vulgaris*도 pH 7.5 부근에서 배양했을 때 비증식속도가 0.96day⁻¹로서 pH 7.0에서 배양했을 때의 0.55day⁻¹보다 커서 국립수산진흥원 남해수산연구소 총무분소의 *Chlorella* sp.와 비슷하게 pH 7.5부근에서 증식이 왕성함을 알 수 있었다.

pH 7.5 부근에서 *Chlorella vulgaris*를 배양할 때 공기의 공급이 용존산소의 농도에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위해, 배양 5일째 부터 0.2vum의 속도로 공기를 공급하였으며, 그 결과는 Fig. 17에 나타내었다.

공기를 공급하지 않은 4일째까지 용존산소의 농도가 약 0.021vum에 이르렀다가, 공기의 공급을 재개하였을 때 그 농도가 0.015vum이하로 낮아졌다. 이는 공기로 포화된 해수배지 중의 용존산소 농도 0.8×10^{-2} vum보다 높은 0.021vum으로 과포화된 배양액에 공기를 공급하였을 때 배양액 중의 용존산소가 오히려 공기중으로 배출되기 때문으로 생각되었다. 이 결과로 미루어 보아 배양 중의 희분식 배양조에서는 충분한 공기의 공급이 교반을 통한 *Chlorella vulgaris*의 침전 방지와 혼합 효과뿐만 아니라, 배양액 중에 포화된 산소의 제거에도 큰 효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 지나치게 많은 공기의 공급은 오히려 증식에 저해를 미치는 것으로 판명되었기 때문에, 공기 공급속도는 앞에서의 공기 공급속도 조절 실험 결과에서 알 수 있었듯이, 배지에 대하여 0.56 vum이하가 되어야 하는 것으로 생각되었다. 그리고 내부 aeration이 아닌 경우에는 gas 교환기를 설치한다면, 이러한 공기 공급은 필요하지 않은 것으로 생각되었다.

그리고 pH 7.0의 해수에서 배양한 국립수산진흥원 남해수산연구소 총무분소의 *Chlorella* sp.와 *Chlorella vulgaris*의 비증식속도를 비교해 보면, *Chlorella vulgaris*의 비증식속도가 0.55day⁻¹로 *Chlorella* sp.의 0.47day⁻¹보다 큰 값을 나타내었다. 이로 미루어 보아 *Chlorella vulgaris*가 mass

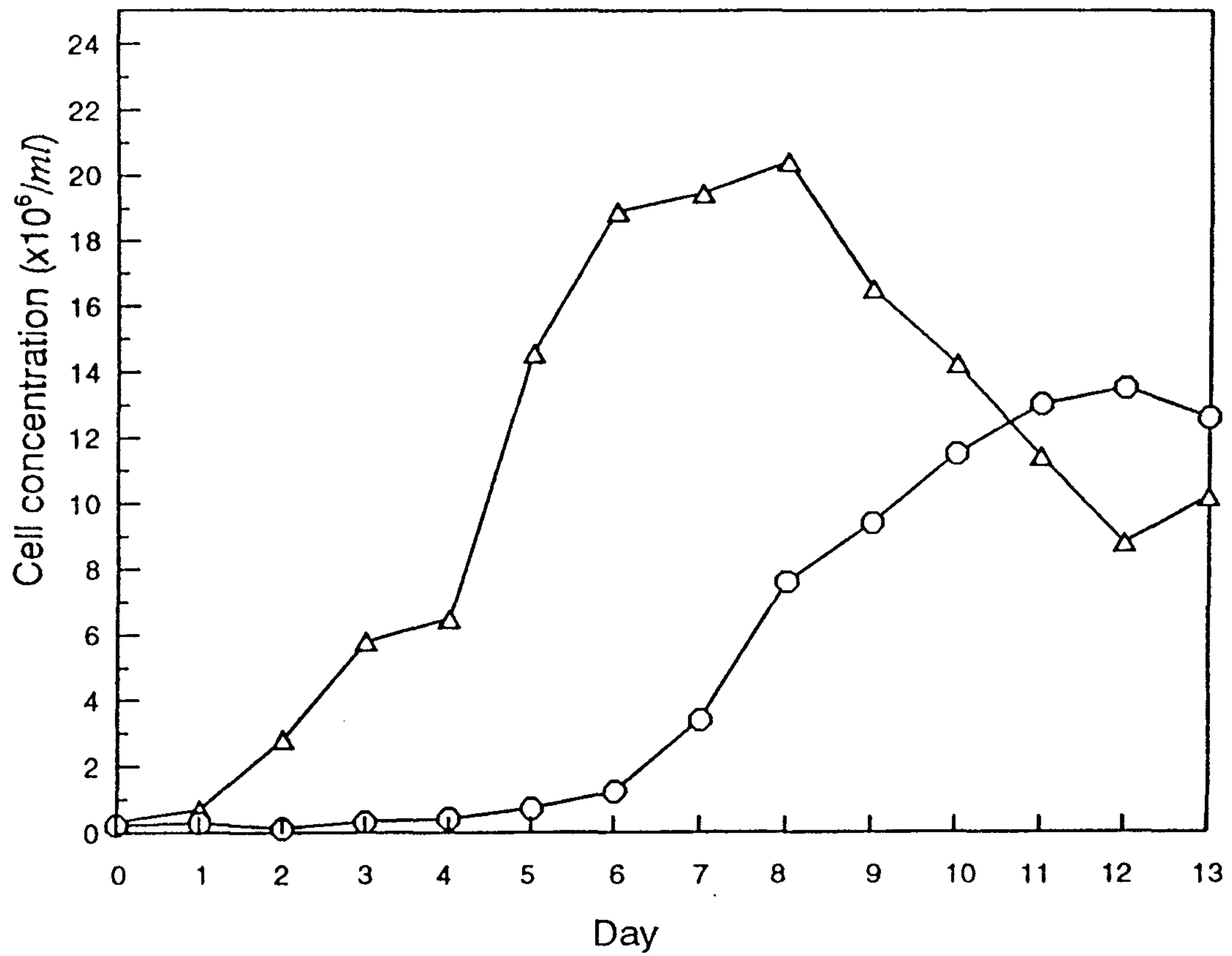


Fig. 16. Growth curves in PC-PBR at different pH conditions.

Temp. : 25°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Impeller speed : 1,000 rpm

○ : pH 7.0

△ : pH 7.5

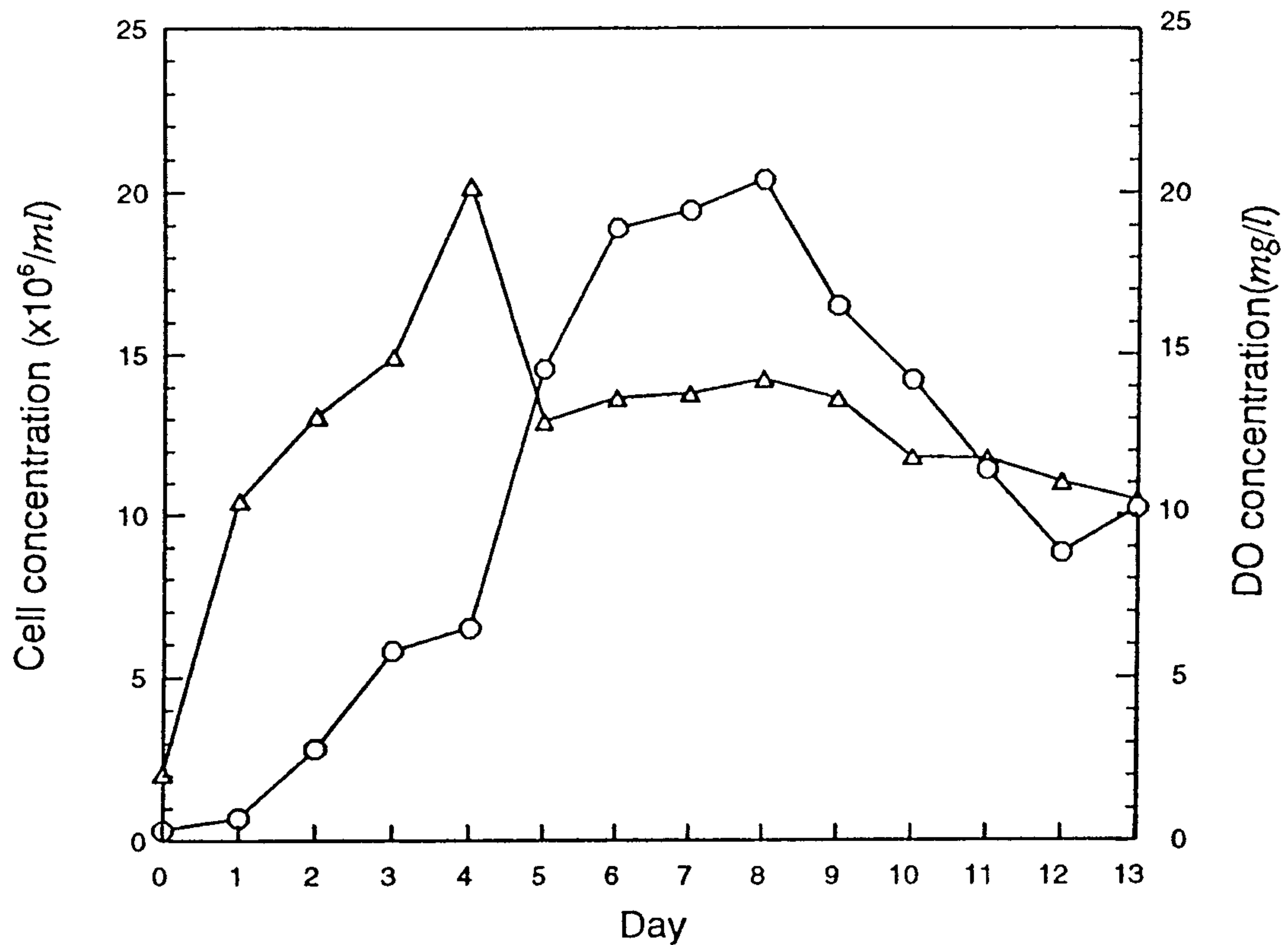


Fig. 17. Growth curves and changes of DO concentration in PC-PBR

Aeration was started at 5th day.

Temp. : 25°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Impeller speed : 1,000 rpm , Air flow rate : 0.2 vvm

○ : Cell concentration

△ : DO concentration

productivity 측면에서 더 우수한 종으로 판단되었다.

그러나 *Chlorella vulgaris*의 배양 결과를 남해수산연구소의 *Chlorella* sp. 배양과 비교하였을 때, 몇가지 문제점이 제기되었다.

첫째, 같은 cell 농도에서 *Chlorella vulgaris*의 경우 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.에 비해 엽록체의 색깔이 매우 짙기 때문에 배양 중에 그 농도가 높아지면 빛의 투과성이 떨어짐을 확인할 수 있었다. *Chlorella vulgaris*를 배양할 때 $3.3 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ 의 농도에서는 $6,000 \text{ lux}$ 의 빛이 투과되어 배양조 반대편에서의 조도가 약 $5,000 \text{ lux}$ 정도였으나, $1.75 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ 의 농도에서는 약 760 lux 로 나타났다(Fig. 18). 그러므로 고농도 배양시에는 배양조 내부에서는 최적 조도인 $6,000 \text{ lux}$ 보다 조도가 낮아져서 광합성에 필요한 충분한 광자를 공급받지 못하는 light inhibition 현상 때문에 증식속도가 떨어지게 된다. 따라서 PBR의 설계시에는 light inhibition을 해결하기 위한 새로운 광원의 개발뿐만 아니라, 배양조의 기하학적 형태에 따라서도 light inhibition의 차이가 크게 나타나므로 기하학적 형태의 결정이 매우 중요하게 된다. 즉, 배양조의 형태를 결정할 때 체적에 대한 표면적의 비(S/V)가 최대가 되도록, 두께는 최소가 되도록 설계하는 것이 light inhibition을 적게하는 형태가 될 것이다.

최근 PBR에 관련된 연구들 중, 많은 연구들이 이러한 문제의 해결에 초점을 맞추고 있다. 관형 배양조의 직경을 점점 줄임으로써 체적에 대한 표면적의 비(S/V)를 개선하려는 연구(Benemann, 1987; Gudin and Chaumont, 1991; Tredici and Materassi, 1992)와 배양조의 기하학적 형태를 S/V가 커지도록 plate type으로 제작하는 배양조에 관한 연구(Ramos et al., 1984; Tredici, 1991; Pulz, 1992a), 그리고 형태 변화뿐만 아니라 새로운 광원인 광섬유를 이용하여 배양조 내에서의 빛의 조사가 가능하도록 하여 S/V를 최대로 높이려는 연구(Takano, 1992; Matsunaga, 1992) 등을 통하여 고농도 배양시에 일어나는 light inhibition을 최소로 하는 방법들이 강구되고 있다. 따라서 본 연구에

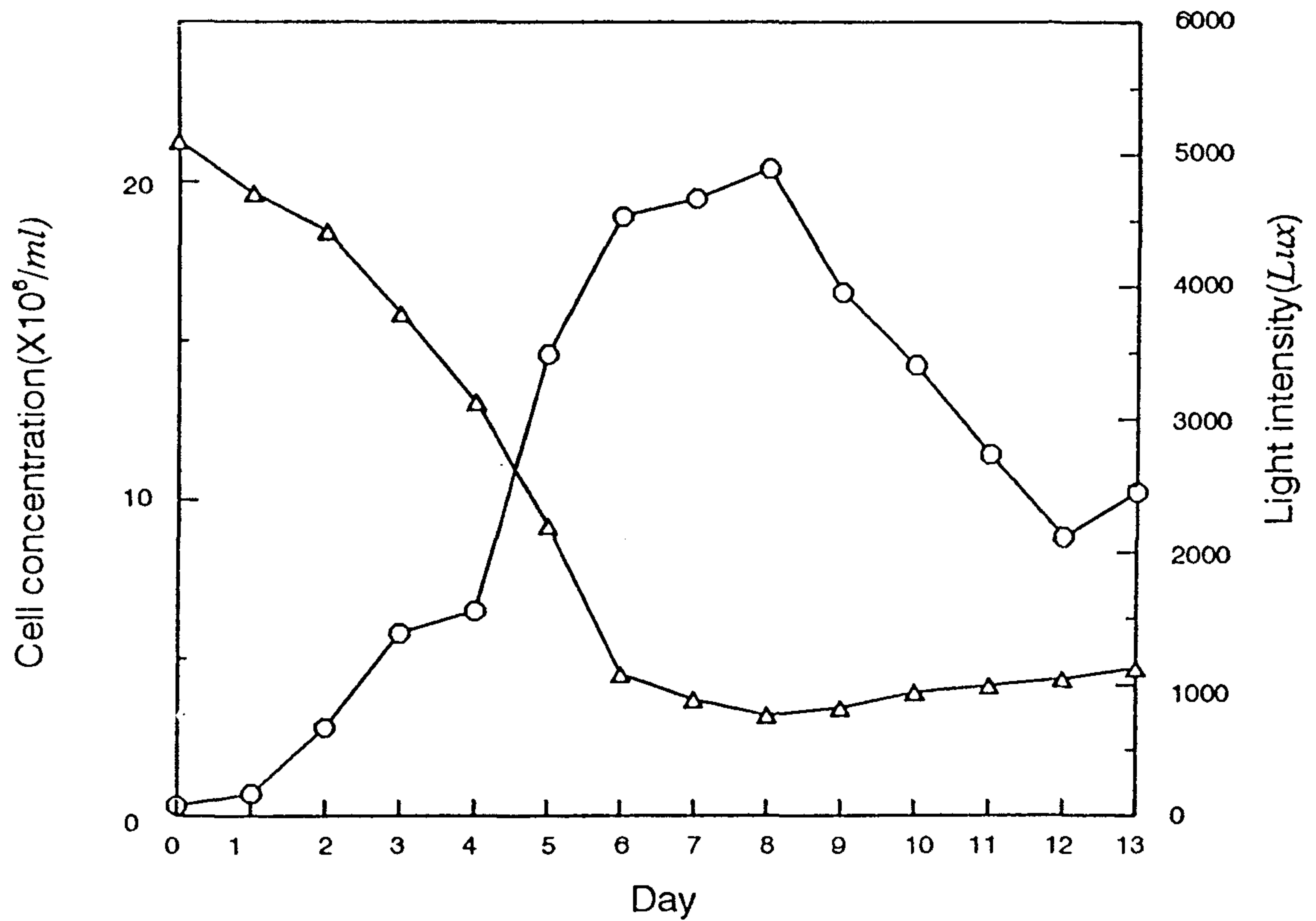


Fig. 18. Changes of light intensity at shadow areas caused by concentrated cell in PC-PBR.

Temp. : $25^{\circ}C$, Illumination intensity : $6,000 lux$,

Impeller speed : $1,000 rpm$, Air flow rate : $0.2 vvm$

○ : Cell concentration Δ : Diffusing intensity

서도 배양조의 설계에서 light inhibition에 대한 대책이 강구되어야 한다.

둘째, *Chlorella vulgaris*의 경우 광합성을 통해 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.보다 상대적으로 많은 산소를 발생시키므로, 용존산소의 축적이 많아지게 되어 대량 배양시에는 산소에 의한 증식저해가 커지게 된다. 그러므로 효과적인 산소 제거 방법이 연구되어야 한다. 이러한 산소 제거 방법으로 본 연구에서는 batch type 배양에서는 배양중에 포화상태 이상으로 축적된 산소를 공기의 공급을 통하여 제거하는 방법이, 그리고 순환식 배양의 경우에는 폭포처럼 배양액을 대기와 접촉시켜 축적된 산소를 제거할 수 있는 가스 교환기를 장치하는 것이 효과적인 것으로 확인되었다.

Table 2에는 문헌상에 발표된 배양조들과 본 연구에서 사용한 배양조들의 체적에 대한 표면적의 비(S/V)를 나타내었다.

제 3 항. 담수 및 해수배지에서의 *Chlorella vulgaris*의 배양

*Chlorella vulgaris*는 현재 다른 무기염의 성분은 동일하게 하고 해수 대신에 증류수를 사용한 담수 f/2배지에서 온도를 25℃, 조도를 6000lux, 교반속도를 1,000rpm, 공기 공급속도를 30l/min로 하고 pH 7.5에서 배양하고 있다. 그러나 지금까지의 결과로 판단한다면, *Chlorella vulgaris*를 해수배지에서 배양하였을 때보다 담수배지에서 오히려 더 높은 증식속도를 나타내었다(Fig 19). 즉, 최대비증식속도 μ_{max} 를 비교해 보면 담수배지의 경우는 $1.12day^{-1}$ 로서 같은 배양기간 동안의 해수배지의 $0.82day^{-1}$ 보다 높은 값을 나타내었다. 그 이유는 담수산인 *Chlorella vulgaris*가 해수에 의하여 성장에 저해를 받기 때문으로 판단되었다. 그러나 *Chlorella vulgaris*가 증식속도는 느리지만 해수배지에서도 증식하므로, 증식이 빠른 담수배지에서 배양한 후에 해수산 동물성 플랑크톤인 *Rotifer*의 먹이생물로 이용하는 것이 가능하다고 판단된다. 이를 위하여 현재 *Chlorella vulgaris*의 담수 증

Table 2. S/V of basic culture vessel types

Culture vessel type	S/V(m^{-1})	System	References
Open system			
Raceway pond	3 - 5		Vonshk, 1987
Inclined PBR	40		Doucha, 1981
Tublar system			
Tubular PBR	30 - 120		Gudin, 1991 Lee, 1992
Laminar system			
Laminar plate	50		
Plate-type PBR	50 - 60		Pulz, 1991
Vertical tublar panel	60 - 80		Tredici, 1991
Fermenter system			
Stirred vessel	2		
Vessel with light diffusing optical fibers(LDOF)	500 - 600		Takano, 1992 Matsunaga, 1992
Our culture vessel system			
VT-PBR	60		
RVC-PBR	41		
PC-PBR	32		

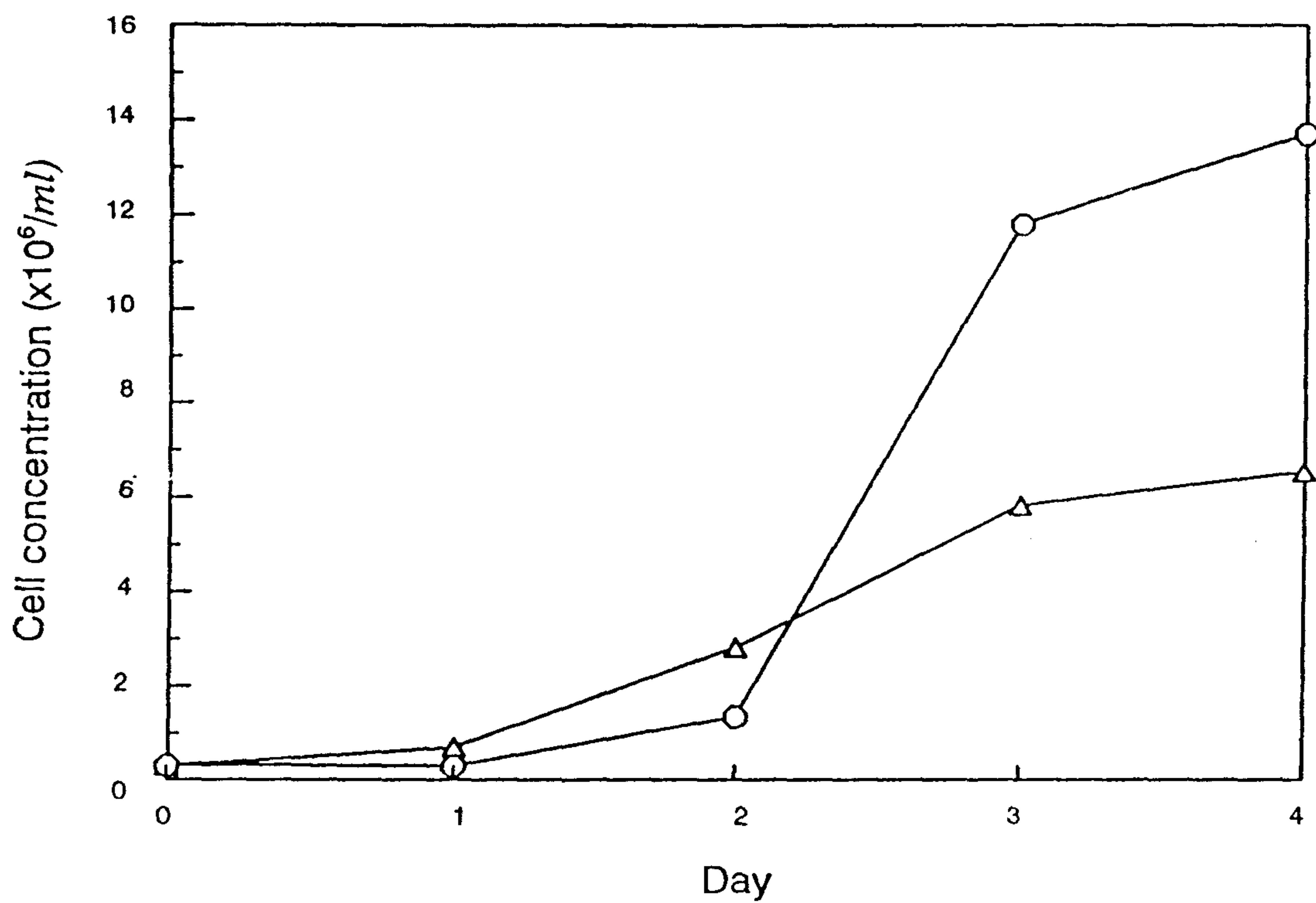


Fig. 19. Growth curves in PC-PBR different culture media.

Temp. : 25°C, Illumination intensity : 6,000 lux,

Impeller speed : 1,000 rpm , Air flow rate : 0.2 vvm

o : fresh water

Δ : sea water

식에서의 최적 배양 조건을 검토중에 있다.

PC-PBR에서 해수배지를 이용하여 *Chlorella*를 배양한 결과를 종합해보면 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.의 배양 최적 pH는 7.2~7.5이고, 이를 지표로 CO₂를 공급하는 것이 바람직하였다. 그리고 batch type의 PBR에서 배양할 때, 배양액 중의 과포화 용존산소 제거에는 공기의 공급이 필수적이었다. 담수산 *Chlorella vulgaris*의 해수배지에서의 배양 최적 pH는 7.5 부근이었다. 그리고 해수배지보다는 담수배지에서 비증식속도가 크기 때문에 대량 배양에는 국립수산진흥원 남해수산연구소 충무분소의 *Chlorella* sp.보다 Göttingen 대학에서 분양받은 담수산 *Chlorella vulgaris* 211-11b가 더 유리하였다. *Chlorella vulgaris*의 배양에서 cell의 농도가 높으면, 빛의 투과성이 낮아지므로 배양조를 설계할 때는 S/V가 커지도록 설계하여야 한다.

PC-PBR은 VT-PBR이나 RVC-PBR에 비해 S/V가 작아서 빛의 부족 현상 때문에 고농도 배양이 어려우며, PC-PBR을 10배 정도로 scale-up시키면 S/V는 3.17m⁻¹ 정도로 더욱 작아져서 대량 배양을 위한 대형 배양조로는 부적합하게 되는 단점이 있다.

제 4 절. Semi-closed raceway pond photobioreactor (SCR-PBR) 제작과 설계 정보

이 배양조는 낮에는 태양광을 이용하고 밤에만 인공광을 공급받게, 그리고 배양 중에 발생된 산소의 효과적인 제거를 위해 폭포식으로 대기과 배양액의 접촉면적이 커지도록 설계, 제작하였다. 이 배양조를 이용한 실험은 현재 진행중이나 낮(30℃)과 밤(10℃)의 기온차가 심하고 CO₂를 공급하지 않아 높은 증식속도를 기대하기 어렵다. 그러나 이러한 배양장치와 여러가지 인자들을 조절하도록 만들어진 장치간의 경제성을 비교함으로써 개발된 장치들의 경제성을 확인하는데 좋은 자료를 제공하리라 기대된다.

제 5 절. 실험에 사용된 배양조들의 비교

배양 중에 *Chlorella*의 농도가 높아질 경우 빛의 부족에 의하여 증식속도가 감소하게 되는데, 이러한 현상은 체적에 대한 표면적비(S/V)가 커질수록 감소하게 된다. 현재까지 제작하여 연구에 사용한 배양조들의 S/V와 배양 중에 도달한 최대 cell 농도를 비교해 보면, S/V가 커질수록 최대 cell농도도 커짐을 알 수 있었다(Table 3). 이는 S/V가 커짐에 따라 빛이 투과하는 깊이가 커지게 되어 높은 농도에서도 빛의 부족에 의한 증식중단 또는 증식저해 현상이 일어나지 않기 때문이다. 그러나 최대 비증식속도 μ_{max} 는 S/V에 따라 커지는 것이 아니라 환경인자들이 잘 조절될수록 커진다.

그러므로 photobioreactor의 설계할 때에는 체적에 대한 표면적의 비(S/V)가 커지도록 배양조의 기하학적 형태를 결정하고, *Chlorella*의 증식에 영향을 미치는 인자들이 기계적으로 모두 정확하게 조절될 수 있도록 하여야 생산성 높은 photobioreactor의 개발이 가능할 것이다.

제 6 절. 배양공정 자동화 프로그램의 개발

배양공정 자동화 프로그램은 최적 비증식속도에 영향을 미치는 인자들의 파악이 완료된 후에 이들 인자들을 적용할 최종 배양조 모델을 설정하고 그에 맞추어서 설계·개발 하고자 한다. 전체 프로그램의 골격은 완성되었으며, 배양조의 온도제어 프로그램은 완성단계에 있다. 또한 pH 조절을 위한 CO₂ 공급량, 빛의 공급량, 용존산소량 조절을 위한 공기 공급량 등의 조절을 위한 프로그램은 각종 IC 모듈 및 A/D, D/O 변환기를 통하여 미리 보정되어있는 각각의 값들을 배양조내에서 항상 일정하게 유지될 수 있도록 자체 개발할 것이다. 이러한 프로그램들은 상황에 따라서 항상 수정이 가능하도록 개발할 것이기 때문에 어떠한 조건하에서도 공정의 자동화가 이루어 질 것이다.

Table 3. Comparison of photobioreactors in 3 types

Photobioreactor	S/V (m^{-1})	Maximun Cell Concentration ($\times 10^6/ml$)	μ^* (day^{-1})
VT-PBR	60	84.2	0.39
RVC-PBR	41	52.2	0.56
PC-PBR	32	20.4	1.12

μ : Specific growth rate

제 1 항. 전체 control 시스템

배양공정의 자동화를 위한 장치의 전체적인 개략도는 Fig. 20에 나타내었다. 전체적으로 제어 부분, 운전 부분 및 sensing 부분으로 나누어진다. 제어 부분은 컴퓨터, 프로그램 및 각종 controller, 운전 부분은 배양조와 CO₂ controller, air controller, heater, 냉각기 및 조도 조절기로 이루어져 있으며, sensing 부분은 각종 센서와 센서가 감지한 값들을 컴퓨터에 입력시킬 수 있는 값들로 증폭시켜주는 증폭기로 이루어져 있다.

이러한 전체적인 개략도를 Fig. 21에 더 상세하게 나타내었는데, 배양조 내부의 온도, pH, 조도 및 gas의 농도는 각각의 센서에 의해서 감지되고 이 값들은 증폭기와 각종 변환기를 거쳐서 컴퓨터에 입력되게 된다. 또한, 배양조내의 온도, pH, 조도 및 gas의 농도를 제어하기 위하여 자체에서 개발한 프로그램을 사용하여 각종 controller에 의하여 실험에서 얻어진 보정 값에 항상 일정하게 유지될 수 있도록 할것이다.

제 2 항. 프로그램의 개요

본 연구의 목적인 *Chlorella*를 최적 조건에서 대량 배양 할 수 있는 배양공정의 자동화를 위하여, 각종 계측용 센서와 제어용 접속기기들을 자체 제작한 모형 배양조의 각 부위에 연결시키고 이를 마이크로 컴퓨터와 연결하여 대량 배양이 가능하게 할 것이다.

실제 운전 중 배양조 내의 온도, pH, 조도 및 gas의 농도를 제어하기 위한 프로그램의 전체적인 흐름도와 각각의 sub-routine 프로그램에 대한 흐름도는 다음과 같다.

1. 전체공정제어에 대한 흐름도

Fig. 22에는 배양공정의 자동화를 위한 전체 프로그램의 흐름도를 나타내었다. 배양 시작과 동시에 초기에 각 인자들에 대한 보정된 값들을 입력

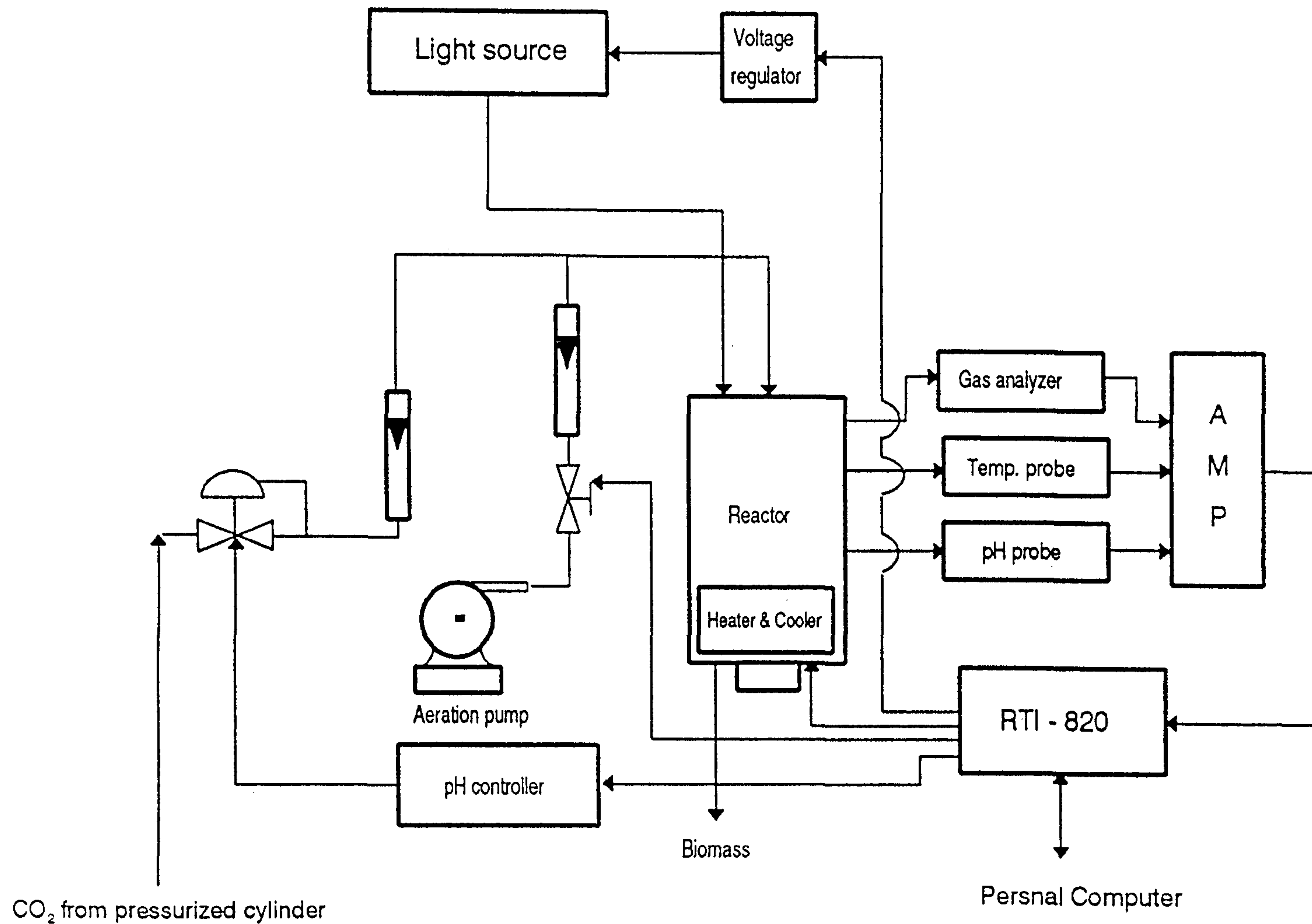


Fig. 20. Schematic diagram of photobioreactor with automatic feedback control system.

시키게 되면 모든 공정이 컴퓨터와 각종 변환기 및 IC 모듈들에 의해서 제어되면서 배양조 내에서의 배양이 이루어진다. 제2항의 2에서 제2항의 6 까지에는 이러한 전체공정제어 프로그램을 보조하기 위한 보조프로그램들의 흐름도를 상세하게 나타내었다.

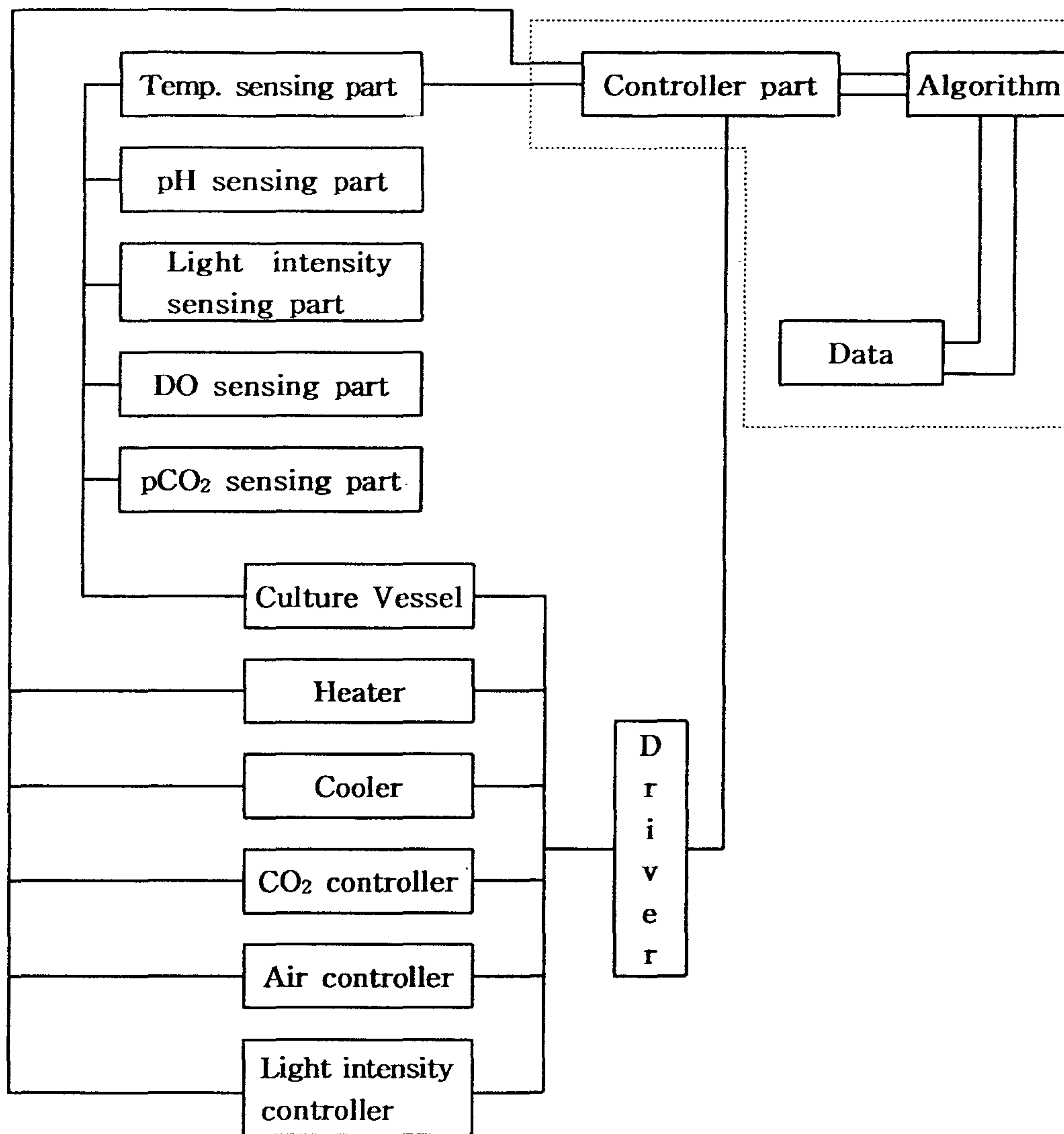


Fig. 21. Block diagram of computer control system.

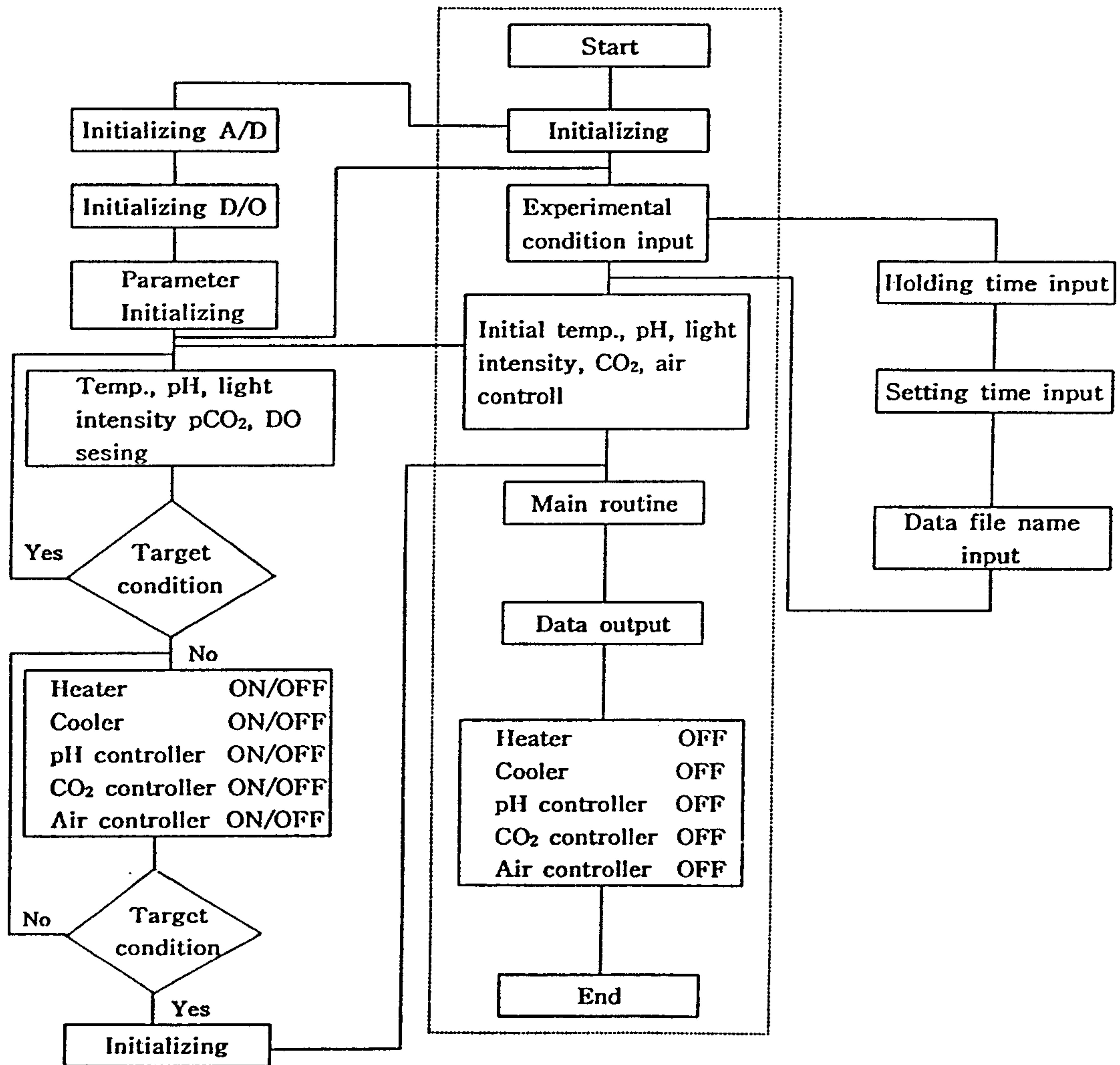


Fig. 22. Flow chart of controller operating program.

2. 온도제어에 대한 흐름도

배양조 내부의 온도제어는 이미 자체 개발하여 열처리공정의 자동화에 사용된 retort 온도제어 프로그램을 기초로 배양조에 알맞도록 수정작업하였다. Fig. 23에는 온도제어를 위한 sub-routine 프로그램을 나타내었다.

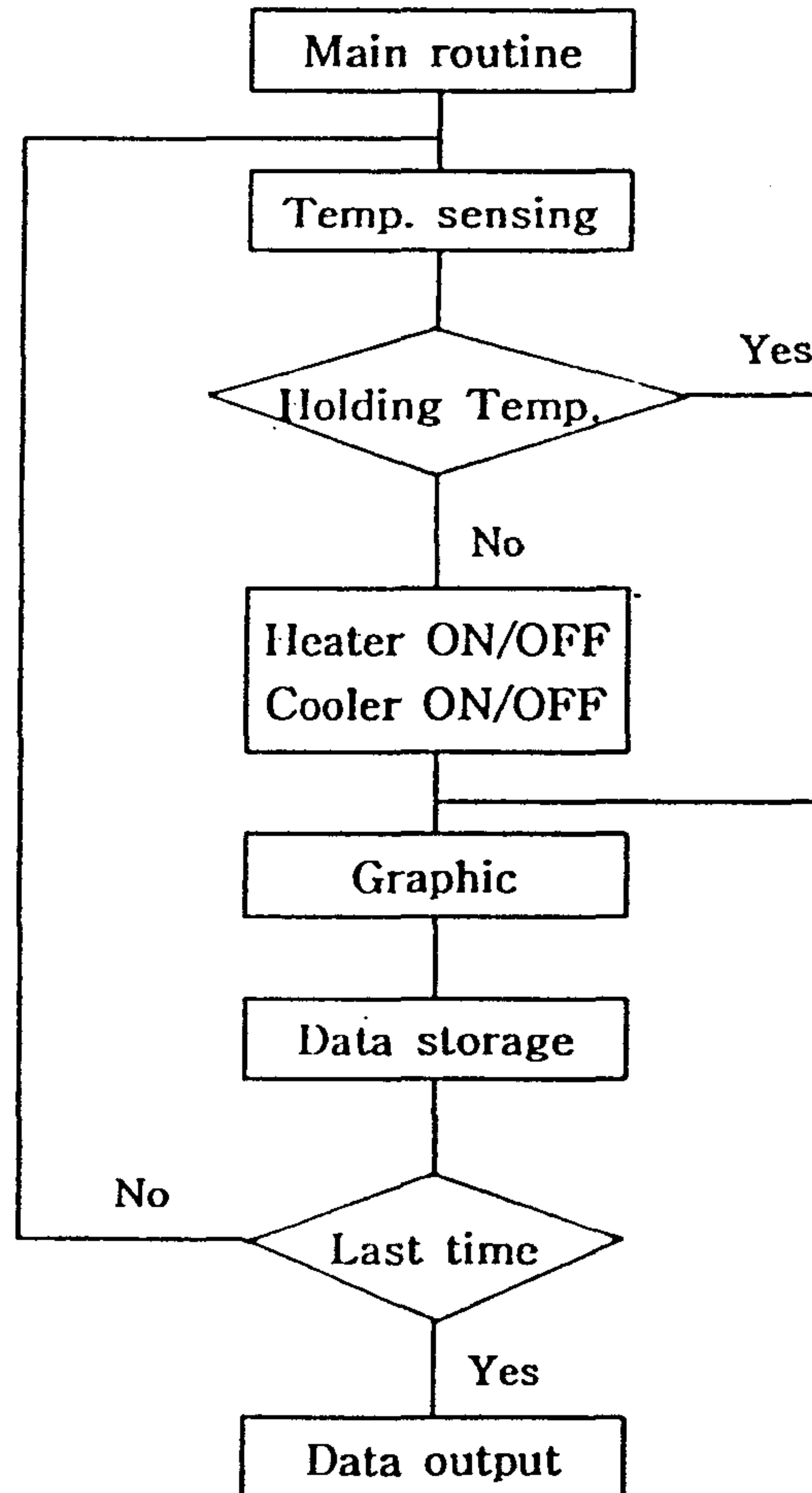


Fig. 23. Flow chart of temperature control program.

3. pH 제어에 대한 흐름도

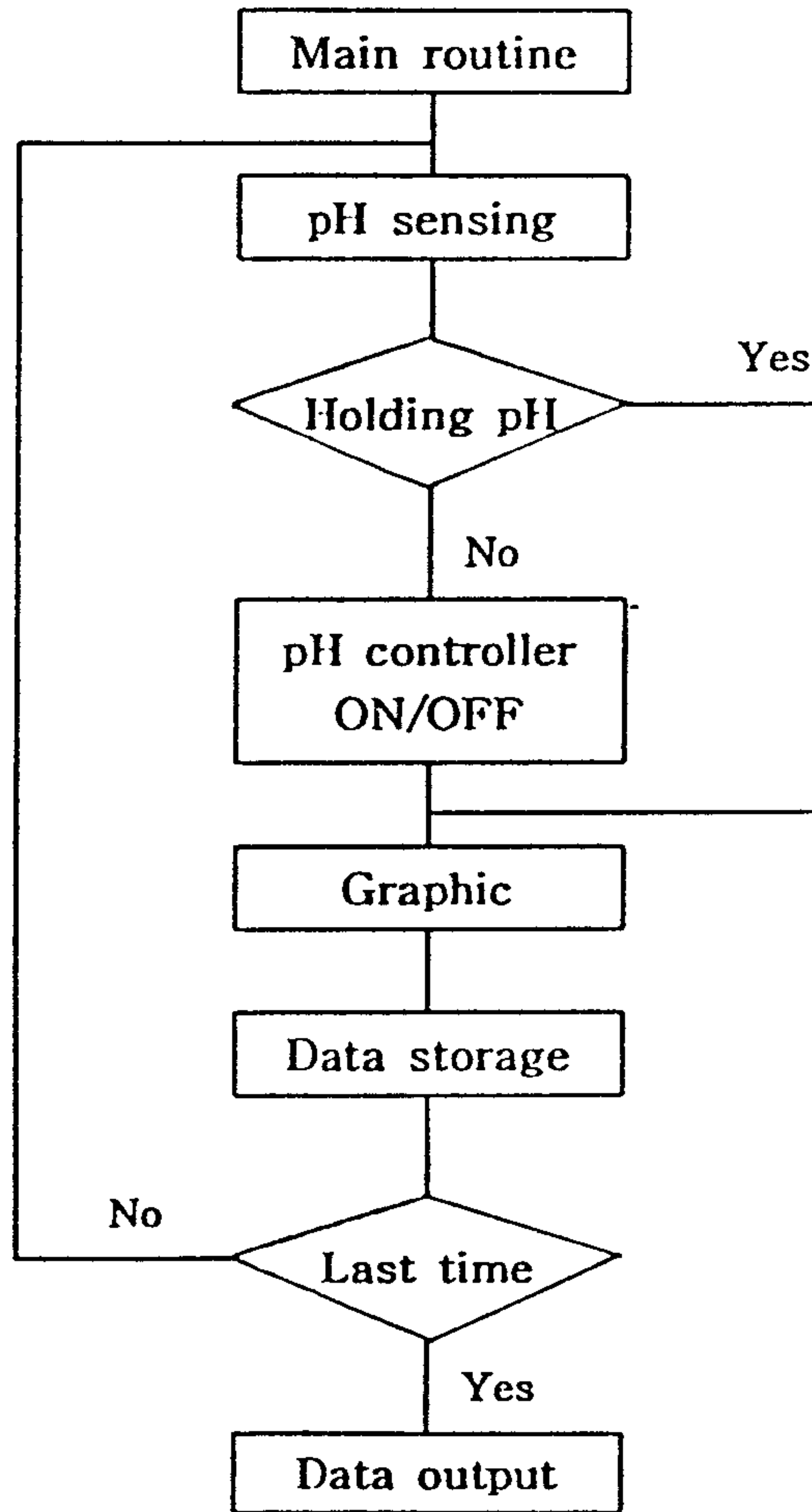


Fig. 24. Flow chart of pH control program

4. CO₂ 공급량 제어에 대한 흐름도

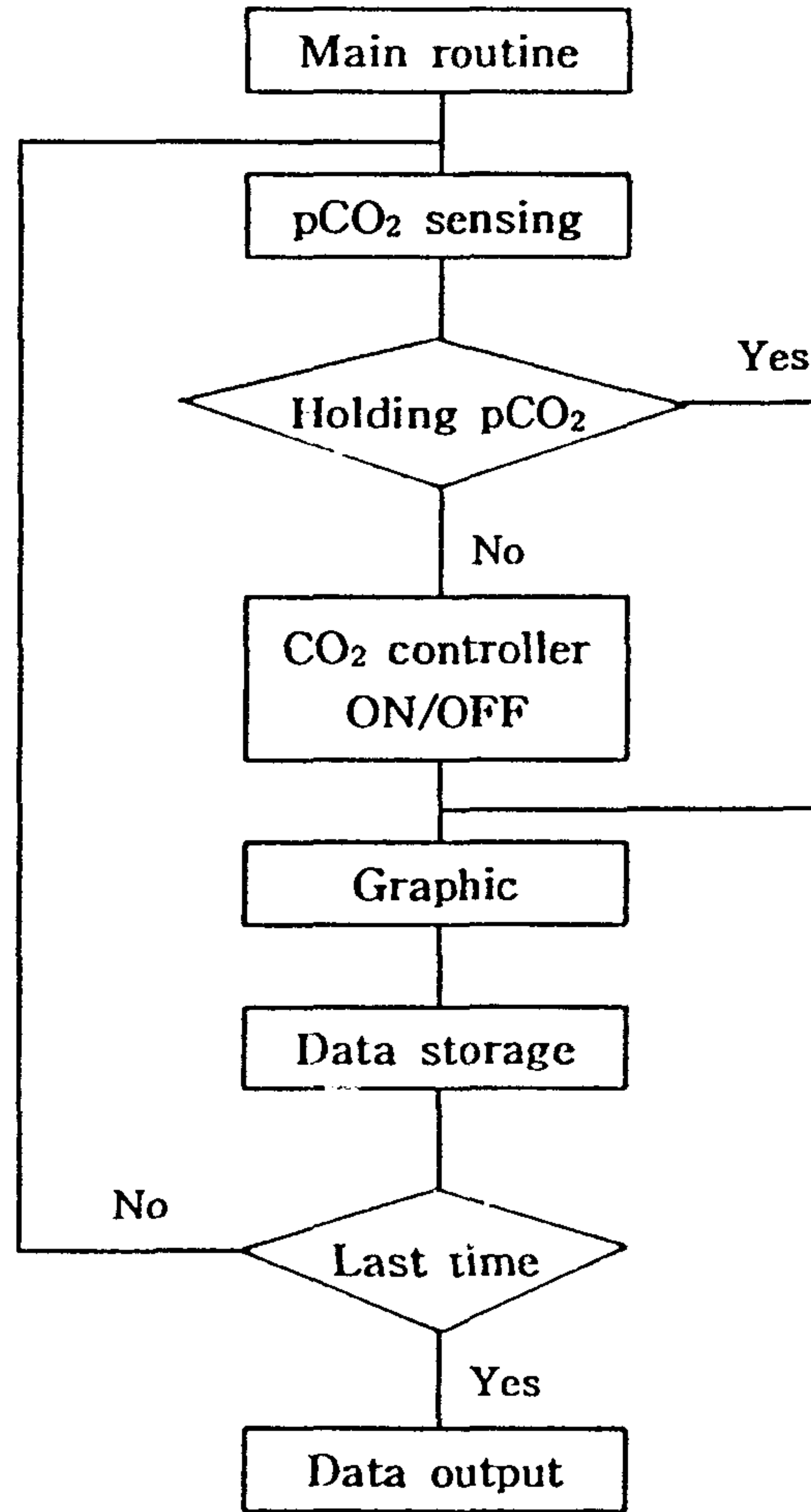


Fig. 25. Flow chart of pCO₂ control program

5. 빛의 공급량 제어에 대한 흐름도

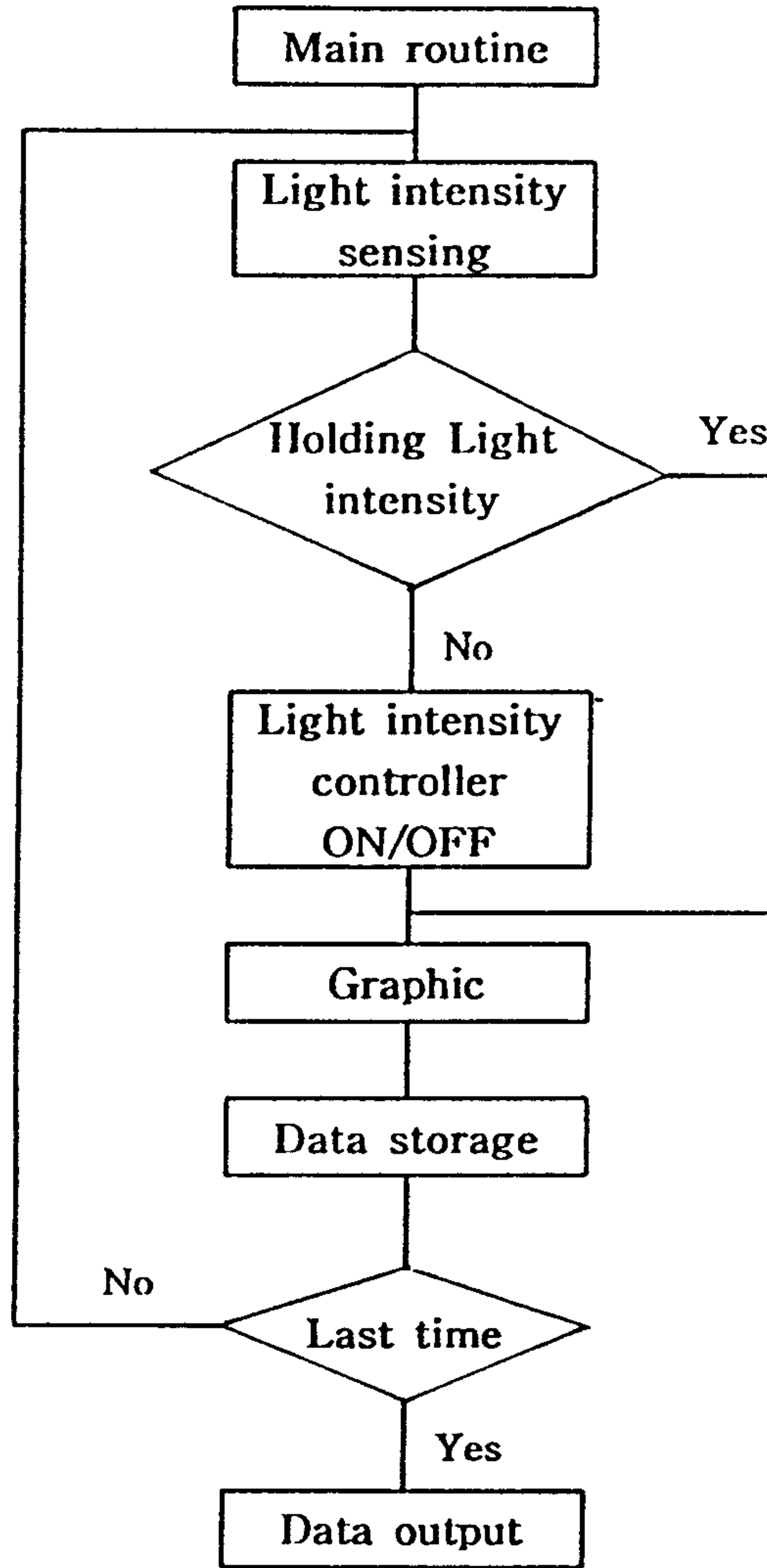


Fig. 26. Flow chart of light intensity control program

6. 용존산소량 제어에 대한 흐름도

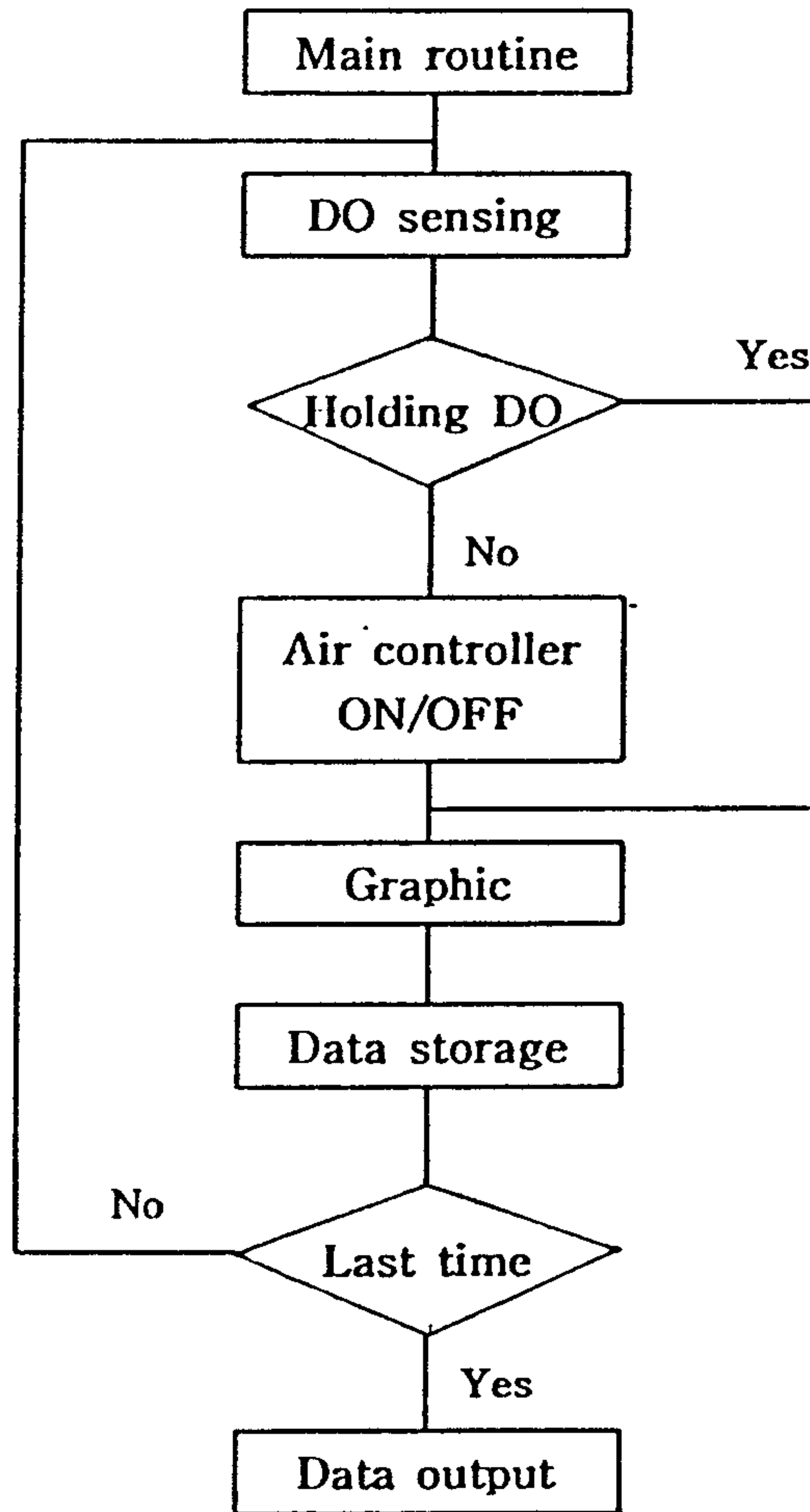


Fig. 27. Flow chart of DO control program

제 3 항. 각각의 인자들을 제어하기 위한 센서의 개발

배양조 내에서의 각각의 인자들을 제어하기 위한 센서들은 이미 개발된 기존의 센서 또는 자체 개발한 센서들을 이용하여 전체공정들을 제어할 것이다.

1. 온도 센서

배양조 내의 온도를 측정하기 위한 센서로는 T-type의 copper - constantan thermocouple을 사용할 것이다. 본 연구에서 사용하게 될 열전대는 Fig. 28에 나타낸 바와 같은 전위차에 대한 온도 특성을 가진다. 즉 35℃에서 140℃의 온도 범위에 대해 약 1mV~5mV의 전위차를 가지므로, 이 값을 컴퓨터에 입력하기 위해서는 A/D 변환기의 입력치인 0V~5V범위로 증폭시키는 전위 증폭기를 필요로 하게 된다. 따라서, OPAMP(Operational Amplifier, MA 741)를 사용하여 약 100배 증폭되도록 할 것이다. 이 때 온도와 증폭기에 의해 출력되는 전압의 관계는 Fig. 29에 나타내었다.

2. pH 센서, CO₂ 센서, 빛의 공급량 제어를 위한 센서, D/O 센서

온도 측정을 위한 센서 이외의 다른 인자들을 측정하기 위한 센서들은 가능한 한 자체 개발을 검토 중이며, 외부용역에 의한 개발 또는 기존 제품의 사용을 검토 중에 있다.

제 4 항. 공정자동화의 앞으로의 활용방안

현재까지의 연구와 앞으로 계속적으로 도출될 연구결과들을 통해서 개발될 배양조 자동화 장치는 최적 조건으로 *Chlorella*를 대량 배양할 수 있

도록 보완, 개발하고자 한다. 그리고 배양조의 규모는 현재의 실험실 규모의 것이 아닌, 실제 양어장에서 사용가능한 규모로 scale-up시키며, 또한 설치에 있어서도 경제적인 측면을 고려하여 배양조를 완성함으로써 산업적, 경제적으로 많은 잇점을 가져올 수 있도록 하고자 한다.

참 고 문 헌

- Becker, E.W. 1981. Algae mass cultivation - production and utilization. Process Biochemistry, 8/9, 10-14
- Beneman, J.R. 1989. Microalgal biotechnology - products, processes and opportunities. OMEC Intern. Inc.
- Burlew, J.S. 1953. Algal Culture from laboratory to pilot plant, Carnegie Institute of Washington Publication 600, Washington DC.
- Doucha, J. 1991. The influence of dissolved oxygen concentration on the productivity of algae. Potsdam-Tebon joint project report.
- Gudin, C. and D. Chaumont. 1991. Cell Fragility - The key problem of microalgal mass production in closed photobioreactors. Biores. Technol., 38, 145-151.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatom, I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea*. Gram. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- Häder, D.P. 1993. Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems in - Tevini M UV-B radiation and ozone depletion - Effects on humans, animals, plants, microorganisms, and materials. Lewis Publishers, Boca Raton, London, Tokyo, 155-191.
- Lee, Y.K. 1992. The productivity of outdoor algal cultures in a closed tubular photobioreactor. Proc. 1st Asia-Pacific Conference, Kuala Lumpur.
- Märkl, H. 1992. Cultivation of *Escherichia coli* to high cell densities in

- a dialysis reactor. Appl. Microbiol. Biotechnol., 39, 48-52.
- Matsunaga, T.H. H. Takeyama. 1991. Glutamate production from CO₂ by marine *Cyanobacterium Synechococcus* sp. using a novel photobioreactor employing light-diffusing optical fibers. Appl. Biochem. Biotechnol., 28/29, 157-167.
- Matsunaga, T. 1993. An optical fiber photobioreactor for enhanced production of the marine algae *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso (Utex LB 2307) rich in docosahexaenoic acid. Appl. Microbiol. Biotechnol., 39, 456-459.
- Pulz, O. 1991. Einrichtung zur Kultivation photoautotropher Mikroorganismen. Patent Nr., 413.
- Pulz, O. 1992a. Open-air and semi-closed cultivation systems for the mass cultivation of microalgae, 1st Asia-Pacific Conference Algal Biotechnol., Kuala Lumpur.
- Pulz, O. 1992b. Cultivation techniques for microalgae in open and closed systems. Proceedings of the first European Workshop on microalgal biotechnology, 61-66.
- Ramos de O.A., J.C. Roux and A. Fourcy. 1984. Cultures intensives de chlorelles sous rayonnement solaire dans divers systemes de cultivateurs plans. 2eme Colloque de l'Assoc. frac.
- Stryer, L. 1987. Biochemie. Vieweg Verlag, Braunschweig, Wiesbaden, 330.
- Takano, H. 1992. CO₂ removal by high density culture of marine *Cyanobacterium Synechococcus* sp.. Appl. Biochem. Biotechnol., 34/35, 449-458 .
- Tredici, M.R. and R. Materassi. 1992. From open ponds to vertical alveolar panels - The Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. J. Appl. Phycol., 4, 221-231.

- Tredici, M. 1991. A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and *Cyanobacteria*. *Biores. Technol.*, 38, 153-159.
- Vonshak, A. 1987. Biological limitations in developing the biotechnolgy for algal mass cultivation. *Sciences de l'eau* 6, 99-103.
- Vonshak, A. and R. Guy. 1992 Photoadaption, photoinhibition and productivity in the blue-green algae *Spirulina platensis* grown outdoors. *Plant, Cell and Environm.*, 15, 613-615.
- Weissman, J.C., R.P. Goebel, J.R. Beneman. 1987. Photobioreactor design Mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. *Biotechnol. Bioeng.*, 31, 336-344.