



저작자표시-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사학위논문



2013년 02월

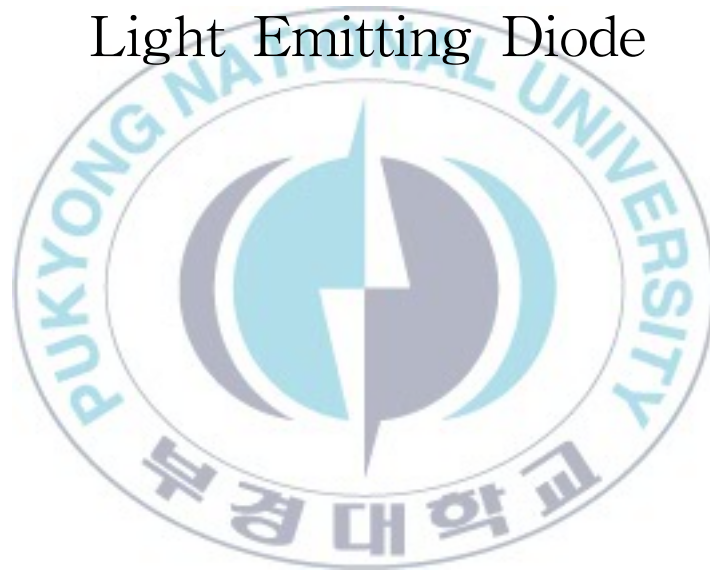
부경대학교대학원

환경공학과

Enkhchimeg AYUSH

Thesis for the Degree of Master of Environmental Engineering

The Optimal Culture Condition for
Marine *Tetraselmis suecica* in a
Light Emitting Diode



by

Enkhchimeg AYUSH

Department of Marine · Environmental Engineering

The Graduate School

Pukyong National University

February, 2013

공학석사학위논문

발광다이오드를 이용한 광생물
반응기에서 해수산 *Tetraselmis*
*suecica*의 최적 배양 조건에
관한 연구

지도교수 이태운

이 논문을 석사학위논문으로 제출함.

2013년 2월

부경대학교대학원

환경공학과

Enkhchimeg AYUSH

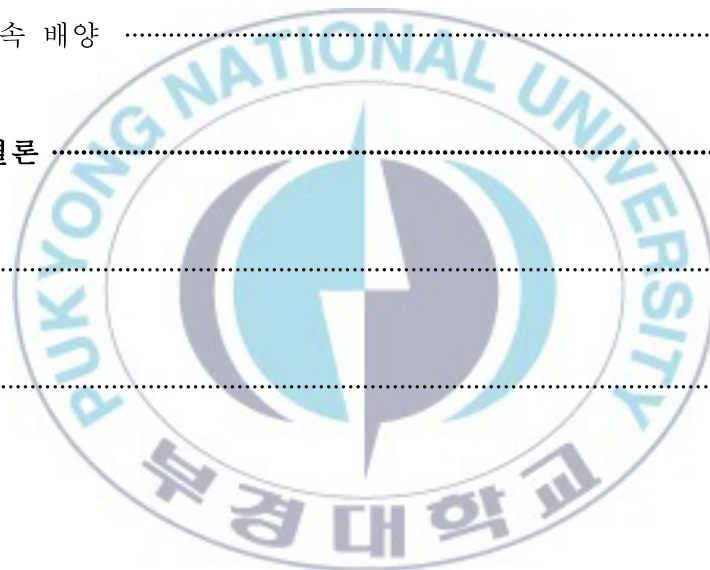
Enkhchimeg AYUSH의 공학석사
학위논문을 인준함.



목차

제 1 장 서론	1
1.1 연구배경 및 목적	1
제 2 장 문헌연구	4
2.1 미세조류의 특성	4
2.2 <i>Tetraselmis suecica</i> 의 특성	8
2.3 미세조류의 대량배양	10
2.3.1 개방형 배양 (Open culture system)	10
2.3.2 밀폐형 배양 (Closed culture system)	11
2.4 형광등과 LED (Light Emitting Diode) 조명 비교	12
제 3 장 재료 및 방법	14
3.1 미세조류 및 배양조건	14
3.2 미세조류 (균주)	14
3.3 광조사 챔버 제작	14
3.4 영양배지	16
3.5 성장률 측정 및 방법	17
3.6 세포 건조량 (Dry cell weight)	17
3.7 비성장속도	18

제 4 장 결과 및 고찰	19
4.1 배양 중의 온도가 성장에 미치는 영향	19
4.2 배양 중의 파장이 성장에 미치는 영향	21
4.3 배양 중의 광도가 성장에 미치는 영향	23
4.4 형광등과 LED 비교 배양	25
4.5 배양 중의 공기공급 속도가 성장에 미치는 영향	27
4.6 반연속 배양	30
제 5 장 결론	33
감사의 글	35
참고문헌	37



List of Table

Table 1.	The general classification of the algae	4
Table 2.	Classification of bioenergy	5
Table 3.	<i>T.suecica</i> (Kylin Butch. 1959)	8
Table 4.	Comparision of Performance in Various Photobioreactor	11
Table 5.	F/2 medium composition	16
Table 6.	SGR of <i>T.suecica</i> in a incubator at different temperature	20
Table 7.	SGR of <i>T.suecica</i> in a photobioreactor at different LEDs	22
Table 8.	SGR of <i>T.suecica</i> in a photo-reactor at different light intensity of LEDs	24
Table 9.	SGR of <i>T.suecica</i> comparison of fluorescent and LED	26
Table 10.	SGR of <i>T.suecica</i> in a photo-reactor illuminated by 9,000 lux white LED at the different aeration conditions	29
Table 11.	Biomass production and specific growth rates of <i>T.suecica</i> with different colored LEDs and fluorescent lights of different temperature and differing test condition	32

List of Figures

Fig. 1. Correlations between biomass and cell concentration	17
Fig. 2. SGR of growth column <i>T.suecica</i> in a incubator at different temperature	20
Fig. 3. Growth column <i>T.suecica</i> in a photobioreactor at different LEDs	21
Fig. 4. Growth curves of <i>T.suecica</i> in a photoreactor at different light intensity of LEDs	23
Fig. 5. Stack column of <i>T.suecica</i> comparison of Fluorescent and LED	25
Fig. 6. Growth curves of <i>T.suecica</i> in a photoreactor at the different aeration conditions	27
Fig. 7. Growth column of <i>T.suecica</i> comparison of air supply and no air	28
Fig. 8. Growth curves of <i>T.suecica</i> at semi continuous culture	31
 Pic. 1. Useful materials and biofuel from microalgae production process	 6
Pic. 2. Photo of <i>T.suecica</i>	9
Pic. 3. Photograph of photo-reactor illuminated by LEDs	15

The Optimal Culture Condition for Marine *Tetraselmis suecica* in a Light Emitting Diode

Enkhchimeg Ayush

Department of Environmental of Engineering, The Graduate School,
Pukyong National University



ABSTRACT

In the present study, the effects of culture conditions using LEDs (Light Emitting Diode) for the cultivation *Tetraselmis suecica* were investigated to determine the optimum culture conditions for obtaining high yields of microalgae. *Tetraselmis suecica* was cultivated under 5 different temperatures (16⁰, 18⁰, 20⁰, 22⁰, 24⁰C) during 8 days. The highest maximum specific growth rate at the 20~24⁰C was observed 0.86 day⁻¹ and low temperature resulted in cell growth inhibition. Specific growth rate and cell concentration were measured for the reactors at the illuminations of different wavelength. The most beneficial wavelength of the cell cultivation was white (0.72 day⁻¹) LED on the culture of *Tetraselmis suecica*.. Thus, the cells were cultivated under white LED by different light intensities (3,000 ~ 9,000 lux) and under

the illumination of 9,000 lux showed the most high concentration of cells. Air supply result in 3.5 times higher concentration than the test cultivated without air supply.

Key words: Light Emitting Diodes (LED), Specific growth rate, Photobioreactor, *Tetraselmis suecica*, Biomass



제 1장 서론

1. 연구 배경 및 목적

산업혁명이 이후 화석연료의 사용으로 인해 온실가스(이산화탄소, CO₂)를 공기 중으로 대량 배출시킴으로써 지구온난화 현상이 심각해지고 이로부터 식량문제, 환경문제, 에너지문제가 전 지구적 규모로 발생하고 있다. 지구온난화 완화 및 해결의 목적으로 선진국들에게 온실가스 배출량을 의무적으로 감축하도록 규정하는 교토의정서(Kyoto protocol)가 2005년도부터 발효되었다. 이에 많은 국가와 연구기관에서는 지구온난화 완화와 화석연료의 고갈의 문제를 해결하기 위해서 대체에너지 (원자력, 수력, 풍력, 지열, 태양열, 바이오디젤)의 개발이 활발히 시도되고 있다. 이들 중에 광합성 능력을 지닌 미세조류를 이용한 생물학적 저장기술이 주목 받고 있다(Lim. et al., 2008, Kang. et al., 2008). 미세조류는 어패류 양식을 위한 *Rotifer* 등 동물성 플랑크톤의 먹이생물로 이용되거나 연료, 비타민, B-carotene, EPA와 같은 고도불포화 지방산, 단백질 및 천연색소 등의 고부가가치 소재의 공급원으로도 이용될 수 있어서, 효율적 이용을 위한 다양한 연구가 진행되고 있다. 최근에는 영양염류의 제거(Svoboda et al., 1989; Banat et al., 1990), 중금속 흡착(Volesky et al., 1990; Wilde et al., 1993; Yun et al., 1997), 이산화탄소의 고정화(Karube et al., 1992; Hall et al., 1993) 등 환경복원을 목적으로 그 잠재력이 알려지면서 폭넓은 관련연구가 수행되고 있다.

미세조류는 염도 농도가 높거나 강한 알칼리 등의 작물 생산에 적합하지

않은 극한 환경에서도 성장이 가능하고 수중에서 태양광, 이산화탄소 등을 이용해 비교적 비용으로 대량 배양과 오일을 체내에 축적할 수 있으며, 배양을 위해 많은 부지가 필요하지 않는다는 장점을 지니고 있다.

미세조류 대량배양의 실제적 방법으로는 대표적으로 Raceway pond (수로형 연못) 배양과 Photobioreactor (광생물반응기) 배양으로 구분할 수 있다. 개방형 배양은 설비투자비와 운전비용이 저렴한 대신 세포의 수율이 낮고, 오염의 확률이 높아 전반적인 신뢰도가 떨어진다. 반면에 밀폐형 장치는 초기 투자비와 운전비용이 매우 많이 들지만, 용이한 장치 조절과 높은 균체 생산 때문에 경제성이 우수하다. 고농도의 미세조류 배양을 위한 효율적인 광생물반응기의 설계를 위해서는 빛이나 기체 전달, 배지성분의 유지, 공간적 제한 요소들이 중요한 원인이 된다(Lee et al., 1999). 이 중 빛은 광생물반응기의 효율성을 높이기 위한 제일 중요한 인자이다. 광생물반응기에서 고농도의 세포로 인하여 용이한 빛에너지가 비효율적인 에너지로 손실되지만 광원에서 세포로 전달되는 과정에서 손실을 최소화하면서 광원이 내는 열전도와 유해파장(자외선 및 적외선)은 전달되지 않도록 해야 한다(Oncel et al., 2008; Matsunaga et al., 1991; Ryu et al., 2004). 1879년에 에디슨에 의해 발명되어 현재까지 사용되고 있는 백열등은 저렴한 비용과 다양한 용도로 인하여 일반 조명용 광원으로 많이 쓰이고 있으며 20lm/W의 낮은 효율과 수명이 짧은 단점을 가지고 있다. 하지만 수은(10~50mg), 납(10~12%) 성분이 함유되어 있어 중금속 규제와 함께 형광등 사용도 규제될 전망이다(Park et al., 2009; Jung et al., 2009; Chung et al., 2006). LED는 형광등, 백열등 및 나트륨등과 같은 기존의 인공광원에 비해 소형으로 설치가 용이하고, 식물체와 미세조류의 광합성 및 생장에 필요한 파장역을 단일 또는 혼합하여 임의로 조절할 수 있다. 특히, 명기시간 동안 분 단위

나 초 단위의 간헐적 광질이 가능(Bula et al., 2006), 간헐적 광조사에 의한 램프의 수명연장 및 전력 소모량 절감효과 우수하며 에너지 절감형의 새로운 인공광으로 이용 가능성이 높다는 장점이 있다.

본 연구에서는 해양 미세조류의 일종인 *Tetraselmis suecica*를 효율적으로 배양하기 위한 조건을 찾기 위해 LED 관생물반응기 시스템을 설계하여 온도, 조도와 강도에 따른 균체의 성장률과 광합성 효율, 공기 공급에 따른 성장을 알아보도록 수행하였다.



제 2 장 문헌연구

2.1 미세조류의 특성

해양은 지구 표면의 71%를 차지하며, 매년 지구상에서 생산되는 2,000억 톤의 광합성량의 90%가 해양에서 이루어진다. 미세조류는 (Microalgae) 수 중에서 이산화탄소와 물을 원료로 광에너지를 이용하며 다량의 유기물질을 합성하고, 산소를 생산하는 광합성 생물로써 지구상에서 육상식물과 대등한 수준의 이산화탄소를 흡수하여 전환하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 조류는 해양에서 생육하는 해양성 조류(marine algae)와 담수에서 생육하는 담수조류(fresh water algae)로 나뉘며 형태학적으로는 거대조류와 미세조류로 분류되고 있다(Kanetsuna, 2002). 이 미세조류를 분류학적으로는 보통 9 개의 문(門)으로 나눈다(Table 1).

Table. 1 The general classification of the algae

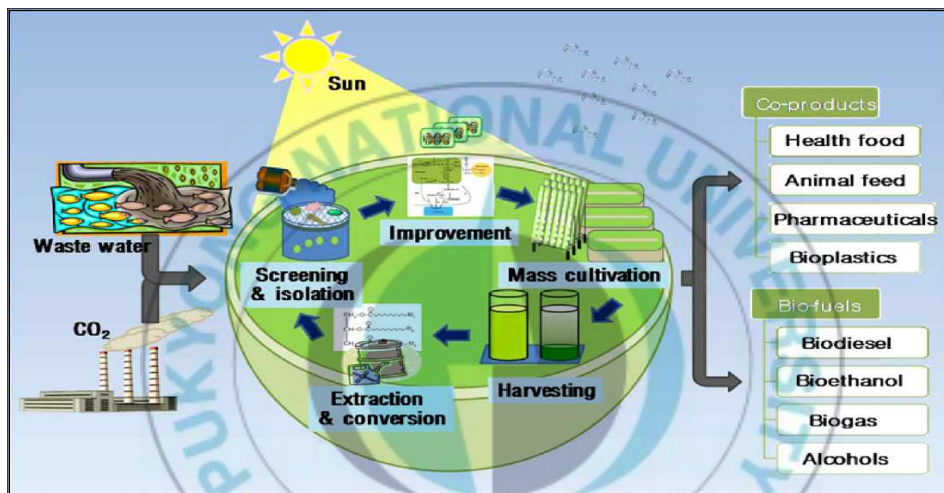
Common name	Division	Chlorophyll
Blue green bacteria	Cyanobacteria	a
Blue green algae	Cyanophyta	a
Red algae	Rhodophyta	a
Green algae	Chlorophyta	a & b
Golden brown algae	Chromophyta	a & c ₁ c ₂
Haptophytes	Haptophyta	
Dinoflagellates	Dinophyta	
Cryptomonads	Cryptophyta	
Euglenoids	Euglenophyta	

세계는 화석연료의 과다하는 사용으로 인한 원료 고갈과 환경오염이라는 커다란 두 가지 문제 앞에서 자연과 공존하여 안정적으로 발전하자는 “지속가능한 발전 (Sustainable development)”의 개념을 deadline로 앞두고 있다. 최근에 기후변화협약과 환경규정에 강화에 의해 친환경 특성을 가지는 에너지 신소재 및 석유를 대체할 수 있는 바이오에너지를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있고 선진국을 중심으로 신재생에너지의 공급과 사용을 촉진하고자 하는 의도는 아직 시작 단계이다. 현재까지는 주로 작물, 목재, 천연섬유 등의 식물 셀룰로오스 자원을 보강재로 이용했었고 작물은 식량과 경쟁하며, 목재 같은 경우는 셀룰로오스 이외에 헤미셀룰로오스나 리그닌이 많이 포함되어 있지만 이들을 제거하는 공정이 필요하고 경제성에서 문제가 되고 재생되지 않은 원료이다. 또 미세조류는 지금까지 사용했던 당·전분질계 (1세대), 목질계 (2세대)보다 효율성과 경제성이 높다는 것을 Table 2.에 나타냈다.

Table. 2 Classification of bioenergy (adapted from reference)

구분	육상식물		해양식물
	당·전분질계 (1세대)	목질계 (2세대)	해조류 (3세대)
원료/생산율	사탕수수, 옥수수 1년에 1~2번	목재류 8년에 1번	미세조류 1달에 1~2번
단위면적당 원료 생산량(톤/ha)	180	9	565
단위면적당CO ₂ 흡수량(톤/ha)	5-10	4.6	36.7
제조공정	간단	복장(리그닌 제거)	간단 (리그닌 부재)
재배환경	태양광, CO ₂ , 담수, 토지, 비료	태양광, CO ₂ , 담수, 토지, 비료	태양광, CO ₂ , 해수

이러한 문제들을 해결하기 위한 다양한 연구가 진행되고 있는 가운데 최근 미세조류는 태양 에너지로부터 광합성을 하여 이산화탄소를 고정하는 해양 생명체로서 고정된 이산화탄소로부터 바이오 연료, 의약품 물질, 기능성 식품, 수산양식용 사료, 동물사료, 화장품 등의 고부가 유용물질을 생산하여 경제적 가치를 창출할 수 있다(Pic. 1).



Pic. 1. Useful materials and biofuel from microalgae production process

특정 미세조류들은 현재 우리가 사용하고 있는 석유와 분자 유사한 오일을 생산하기에 가솔린, 디젤 등의 석유 연료 대체가 가능하다. 또 미세조류를 통한 연료생산은 기존 산업설비를 활용할 수 있기 때문에 시설 투자에 투입되는 막대한 인프라 시설비가 필요하지 않는다. 상업적 대량생산도 가능한데가 미세조류는 다양한 종류의 지질, 단백질, 탄수화물, 저분자 물질 등을 만들어 내므로(Guschina I.A et al., 2006), 지질을 추출하고 남아 있는 바이오매스 중 유용한 물질을 추가적으로 얻어낼 수 있다. 미래의 바이오디젤의 원료로서 미세조류는 식물과 비교했을 때 고갈 문제없고 연중 내내

생산이 가능하며 농작물과 달리 폐수와 염의 사용이 가능해서 상수의 사용을 크게 줄어든다거나 친환경 특성을 가지는 신소재 및 석유를 대체할 수 있는 바이오에너지를 생산하기 위한 새로운 바이오매스원으로써 잠재성을 매우 크다고 할 수 있다.



2.2 *Tetraselmis suecica*의 특성

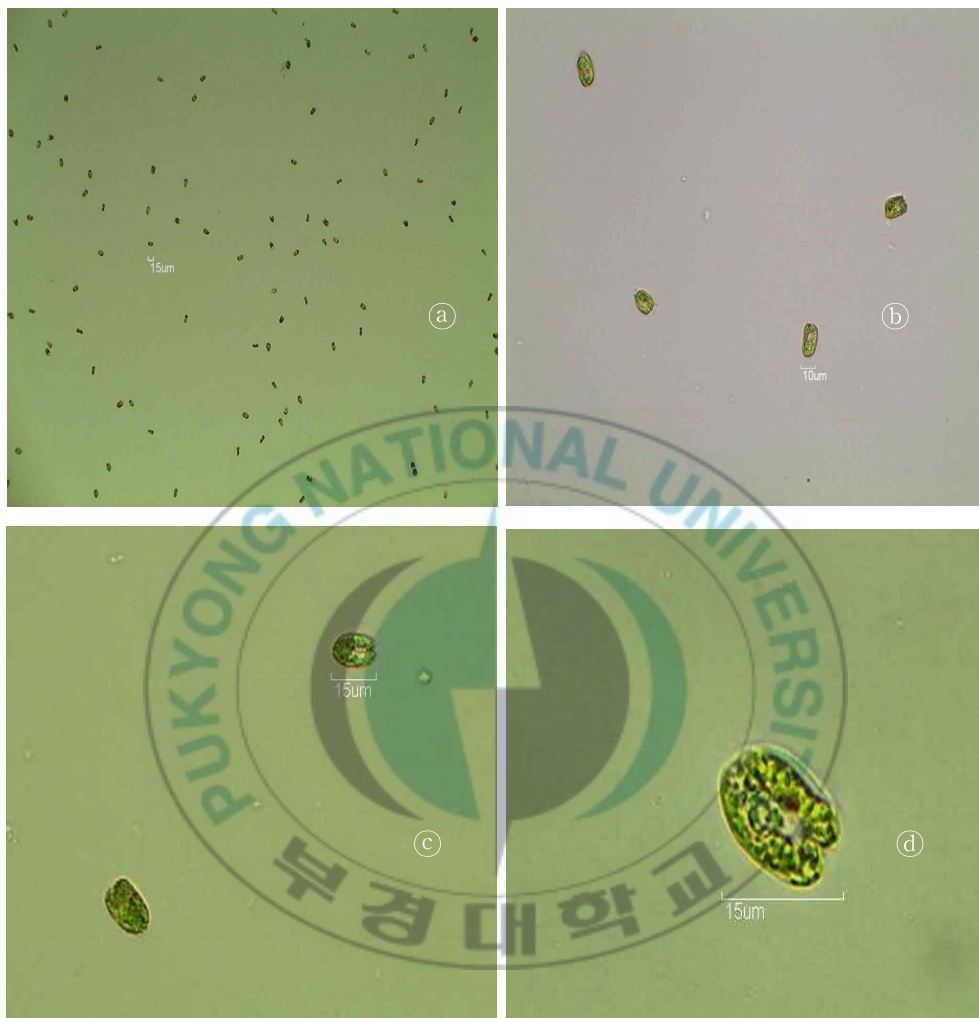
*T.suiceca*는 길이는 8-24 μm , 세포는 2-4개로 분열하는 무성생식을 하는 미세조류이다. 또 Rotifer, 새우, 쌍각류 조개 등의 초기 먹이생물로 많이 이용되고 있다(Muller-Feuga et al., 2003). *Tetraselmis*는 염분에 대한 내성이 높고 (Park. G., S et al., 2005), 광온성 및 광염성인 종으로 대량배양이 용이하며 영양 가치로 비교적 좋은 것으로 알려져 있다(1988). 이 조류는 항균성 (Austin and Day, 1990; Austin et., 1992) 생균제로서 (Irianto and Austin, 2002) 높은 잠재력을 가지고 있는 것으로 확인되었다. 그리고 *T.suecica*에 포함되어 있는 비타민-E 성분이 아주 높기 때문에 인간과 동물 소비를 위해 이용 가능하다(Carballo-Cardenas et., 2003).

Table. 3 *Tetraselmis suecica* (Kylin Butch. 1959)



Scientific classification

Kingdom:	Plantae
Division:	Chlorophyta
Class:	Chlorophyceae
Order:	Volvocales
Family:	Chlamydomonadaceae
Genus:	Tetraselmis
Species:	<i>T.suecica</i>
Binomial name	<i>Tetraselmis suecica</i>



Pic 2. Photo's of *Tetraselmis suecica*
a×40, b×100, c×400, d×1000

2.3 미세조류의 대량 배양

미세조류를 이용하여 이산화탄소를 고정화를 하기 위해서는 고농도 및 대량 배양기술의 확립이 필요한데, 이러한 미세조류를 배양하는 방법에는 옥외에서 배양하는 개방형 배양 (Open culture systems)과 실내에서 광생물반응기 (Photobioreactor)를 이용하여 배양하는 밀폐형 배양 (Closed culture systems)으로 나눌 수 있다.

2.3.1 개방형 배양 (Open culture systems)

개방형이 다양한 형태 중 가장 널리 쓰이는 형태로, 자연적으로 영양원 공급이 풍부한 개방된 연못 등에서 배양한다. 초기에는 설비투자 및 운전비용이 저렴하고 유지 및 보수가 용이한 장점이 있다. 그러나 배양 장치 내부로 효과적인 빛 전달이 이루어지지 않아 세포의 성장속도가 느리고, 세포의 성장 수율이 낮으며, 오염으로 인한 미세조류 생물량 및 종의 불안전성, 영양원의 불균등 분포 등의 문제점과 더불어 많은 양의 이산화탄소를 제거하기 위해서는 넓은 설치 공간이 필요한 단점이 있다. 미세조류의 침전이 일어나는 점과 효과적인 교반이 어렵다. 미세조류의 배양에서 나온 바이오매스를 이용할 목적에 따라서 개방형 빛과 온도 조절을 어느 만큼 극복할 수 있지만 현재 미세조류를 이용하여 생산하는 생물량(biomass)에서 좀 더 고가의 유용 생물활성물질(bioactive compound)로 옮겨감에 따라 밀폐형 광생물반응기의 사용이 늘어나고 있는 실정이다.

2.3.2 밀폐형 배양 (Closed culture systems)

밀폐형 배양은 밀폐된 환경에서 배양한다는 의미로, 주로 광생물반응기를 이용하여 미세조류를 배양하는 것을 의미한다. 미세조류의 고농도 배양을 위한 중요한 인자는 빛, 기체 전달, 배지의 공급, 그리고 생물학적 한계 등이다 어느 정도의 농도 이상에서는 항상 광원이 가장 큰 제한인자이다 (Lee 1999). 빛의 효율적인 전달을 위해서 얇은 판 형(panel type)나 관 모양(tubular type), 광섬유 (Optical fiber) 이용을 이용하여 내부조명(internal illumination)을 시도한 새로운 개념의 광생물반응기도 제작되었다. 적당한 광합성생물반응기를 선택할 때에는 광원의 종류, 광생물반응기의 기하학적 모양, 배양액의 깊이, 그 밖에 영향 인자들을 고려하여야 하며, 광합성 효율을 극대화하기 위해서는 광량 및 광도의 조절과 최적화, 온도 조절, 혼합 그리고 영양염류의 균형 있는 공급 등이 수반되어야 한다. 광생물반응기는 개방형 대량 배양장치에 비해 초기 투자비와 관리 유지비가 상대적으로

Table. 4 Comparision of Performance in Various Photobioreactor

Design	Total vol. (L)	Area/Vol. ratio (m^{-1})	Productivity		Biomass (g/L)	Reference
			per area $g/m^2/d$	per vol $g/L/d$		
Flat-plate	1.4	85		28.8	26.6	9
Tank	5.6	19.3		0.51	2.67	36
Tubular	145	54	27.8		6.3	37
Slab	0.1	100	44	3.15	25	38
Inclined slab	6	85	51.1	4.3	15.8	39
Flat-panel	1.5	56		2.64	4.8	40

높은 단점을 가지고 있으나, 높은 균체 성장 속도와 편리한 운전조건 조절, 그리고 스케일-업이 용이한 장점을 가지고 있다. Table.4에는 대표적인 광합성 미생물 배양 장치들이 특징을 비교하였다.

밀폐형 배양은 생산성과 높은 고부가가치의 물질 생산에 적합하며 이를 고밀도 배양을 함으로써 이산화탄소 고정화능이 우수한 미세조류를 배양함으로써 이산화탄소 저감의 시설 및 운영에 따라 비용의 상쇄를 기할 수 있을 뿐만 아니라, 고부가 가치의 산물을 창출하여 여러 분야로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

2.4 형광등과 LED (Light Emitting Diode) 조명에 비교

1879년 에디슨에 의해 발명되어 현재까지 사용되고 있는 백열등은 저렴한 비용과 다양한 용도로 인하여 일반 조명용 광원으로 많이 쓰이고 있다. 그러나 20lm/W의 낮은 효율과 수명이 짧은 단점이 있었다. 이어 1938년에 개발된 형광등은 백열등에 비해 효율은 7.5배이고 수명은 10배 이상으로 저전력, 저열 발생으로 현재까지 상용되고 있다. 하지만 수은(10~50mg), 납(10~12%) 성분이 함유되어 있어서 중금속 규제와 함께 형광등 사용도 규제될 전망이다(Park et al., 2009; Jung et al., 2009; Chung et al., 2006). 따라서 친환경 대체 조명으로 LED(Light Emitting Diode)의 교체 조명 기술이 이루어지고 있다. LED는 전기를 빛으로 전화하는 효율이 뛰어날 뿐만 아니라 수명이 무척 긴데다가, LED는 햇빛이 가지고 있는 모든 빛의 색깔을 가지고 있다는 장점을 지내고 있다. 그러나 LED는 ON/OFF이라는 중요한 특성이 뛰어나다는 것이다. LED는 아주 빠르게 ON/OFF를 반복해도 과도전류현상(Rush current)이 없다. 1초에 10,000회까지 점멸시킬 수 있고,

그렇게 빠르게 점멸해도 전력손실이 없다는 것이다. 그리고 LED가 가장 열 손실이 적은 발광체이긴 하지만 열이 발생하기 때문에 열 발산을 위해서 바는 전도율이 좋은 알루미늄으로 만들어진다. 광합성에 필요한 빛은 PPFD (Photosynthetic Photon Flux Density)의 단위인 μmol 로 나타낸다. $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이는 광합성용 광양자속밀도를 의미하고 1 m^2 면적에 1초 동안 내리는 광양자의 양이 얼마나 된다는 뜻이다. 태양빛이나 형광등에서 발하는 흰색 빛은 모든 빛이 모여서 만들어지는데 우리가 알고 있듯 흰 빛에는 여러 가지 색의 빛이 섞여 있고 각각의 빛깔의 색은 각기 다른 역할을 한다. 즉 붉은색이거나 적외선 (Infra Red)은 열작용을 하고, 파란색 빛이나 자외선 (Ultra Violet)은 화학적 작용을 주로 한다. 또 이 빛의 밝기를 표시하는 단위가 룩스(Photometry의 단위, 인간의 시각감도에 의한 밝기를 나타내는 단위)다. LED는 점등하기 위한 컨트롤러라는 기구를 이용한다. 가정이나 공장에서 공급받는 모든 전기는 교류전기(AC)이다. LED를 점등하기 위해서는 직류전기(DC)가 필요하다. 컨트롤러는 우리가 공급받는 전기를, LED를 켤 수 있는 전기로 바꿔주는 역할을 한다.

최근 들어 형광등 대신에 기존조명보다 고효율, 저전력 소비, 친환경적인 조명 LED를 광생물반응기 안에 쉽게 착용 가능하다는 점에서 미세조류 대량 배양에 교체하고자하는 시도를 하고 있다. 미세조류를 배양할 때 투입된 전기량에 대한 바이오매스는 생산량에 의해 결정되기 때문이다.

제 3 장 재료 및 방법

3.1 미세조류 및 배양조건

본 연구의 배양조건은 500mL 비커를 이용하여 초기 농도는 4×10^4 , 온도 $1 \pm 22^{\circ}\text{C}$, 파장 선발, 조도 3,500 lux~9,000 lux, 공기 주입 시 세포가 배양기 바닥에 가라앉지 않게 연속적으로 공기 공급속도를 0.8 vvm~2.4 vvm의 범위를 달리하여 실시하였다.

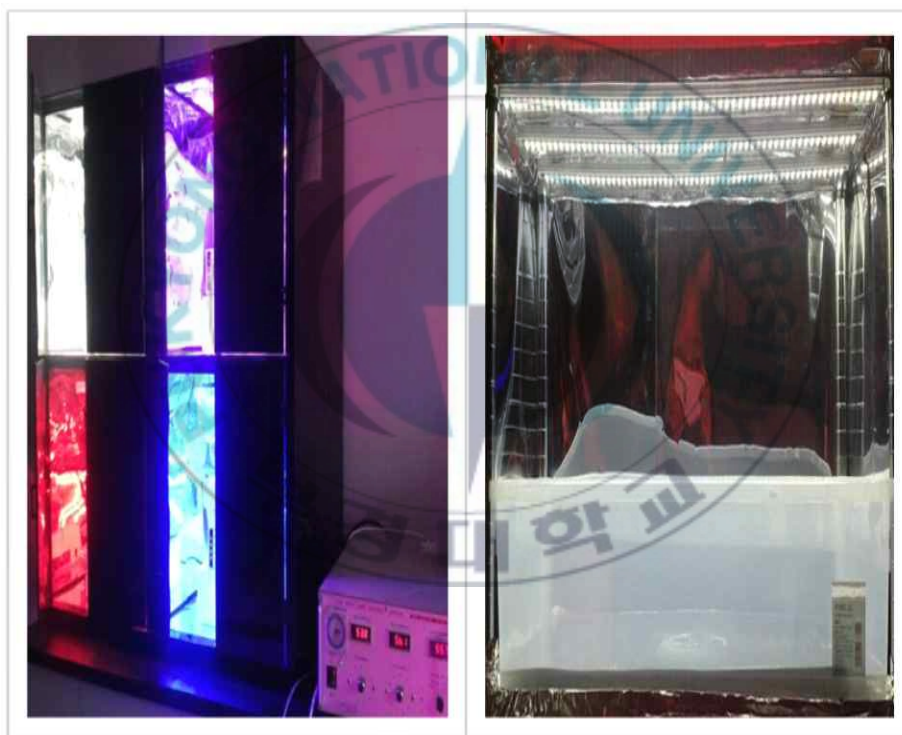
3.2 미세조류 (균주)

본 연구에서 사용된 미세조류는 *Tetraselmis suecica*로 한국해양 미세조류은행 (KMMCC, Korea)으로부터 분양받았다.

3.3 광조사 챔버 제작

LED를 이용한 파장에 따른 성장 속도를 비교하기 위해서 외부 빛을 차단한 수직적인 반응시스템을 구축하였다. 광원으로는 중심 660nm로 발광하는 적색 LED, 450nm 파장의 청색 LED, 백색 LED, 복합 LED1 (RED:WHITE: BLUE=1:1:1), 복합 LED2 (RED:BLUE=3:1)로 제작하였다. LED 램프는 S-tech사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다. (Ilsan, Kyonghi, Korea). LED에 공급되는 전원은 모델 FP-60-12 파워공급기를 사용하였으며(Whawoo Tech. Co., Ilsan, Korea), 광원은 반응기의 상부에 설치하여 위에서 아래로 광을 공급하였다. 조도 및 광량의 조절은 반응시스템 위부를 둘러싼 반사판의 개폐 정도에 따라 조절하였다. 총 3 단

의 반응조로 구성되어 있는데, 가장 낮은 1 단에는 Mixed, 2 단에는 백색 조명, 가장 높은 3단에는 적색 조명이 설치되었다. 각 단에 공급되는 전력은 68.4W로 일정하게 유지되었다. 조도와 광량은 조도계 (I-346 Illuminometer, SEKONIC CORPM PHILIPPINES)와 광량계 (MQ-306, Apogee Instruments, Inc.)를 사용하여 각각 측정하였다.



Pic 3. Photograph of photo-reactor illuminated by LEDs

3.4 영양배지

본 연구에서 사용된 미세조류는 *Tetraselmis suecica*로 한국해양 미세조류은행 (KMMCC, Korea)으로부터 분양받았다. 배양을 위해 사용한 배지는 F/2 배지(Guillard and Ryther 1962)를 사용하였다. F/2 배지에 대한 영양 성분을 Table 5.에 나온 바와 같다.

Table 5. F/2 Medium composition (Unit: g/L , Seawater)

Major nutrient	Chemical formula	Concentration (gram/liter)
1. Nitrate	NaNO ₃	75.0g/L
2. Phosphate	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	5.0g/L
3. Silicate	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	30.0g/L
4.Trace metals		
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.5g
	Na ₂ EDTA	4.36g
Dissolve in 900ml of distilled H ₂ O.		
Add 1 ml of each of following trace metal solutions.		
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.98g/100ml
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.20g/100ml
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.00g/100ml
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	18.00g/100ml
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.63g/100ml
Make up the volume to 1 liter with distilled H ₂ O.		
Add 1 ml per liter of seawater of the above solutions 1-4		
5. Vitamins		
	Biotin	1.0mg
	B ₁₂	1.0mg
	Thiamin HCl	20.0mg
Dissolve vitamins in 1 liter of distilled H ₂ O. Store frozen.		
Add 0.5 ml of vitamin solution for every 1 liter of seawater		

3.5 성장을 측정 및 방법

세포의 성장은 Hemacytometer를 이용하여 광학현미경 (AE2000, Motic, China)을 통해 직접 계수하였다. 세포수를 일정량의 세포 부유액에서 1mL를 마이크로 피펫으로 채취하여 tube에 옮긴 후 4% 포로말린 용액을 넣어 고정한 다음 10 μ m를 취해 눈금 안에 보이는 세포수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당 세포 수(cells/mL)를 계산하는 방법을 이용하였다.

3.6 세포 건조량 (Dry cell weight)

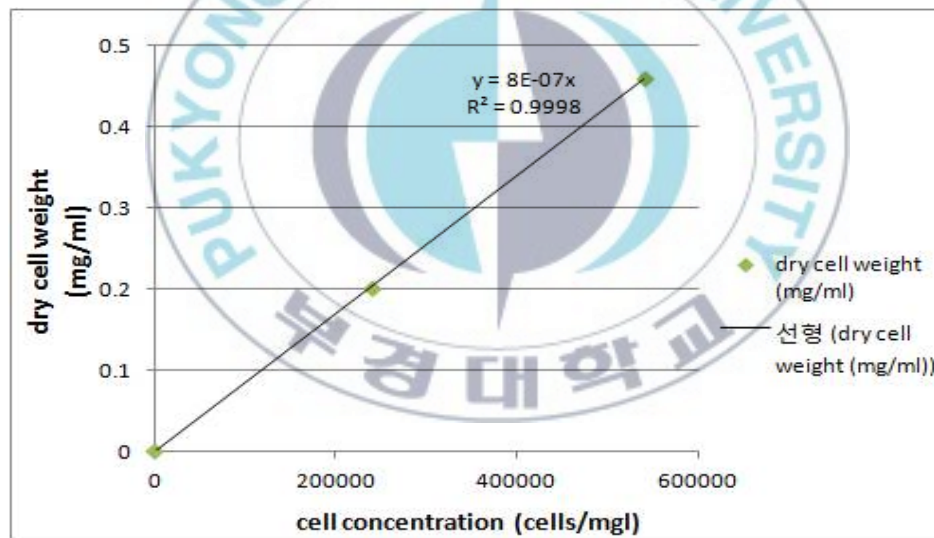


Fig 1. Correlations between biomass and cell concentration

세포의 건조량과 세포농도와 관계를 알기 위해서 세포 건조량(g/L)은 50 mL의 배양액을 0.45 μ m membrane filter로 여과한 다음에 24 시간 건조 (80 $^{\circ}$ C)한 후 30분 방냉하여 무게차로 결정하였다.

그 결과,

$$\text{세포 건조량} = 0.0000008 \times \text{세포 농도} \quad (\text{산관계수} = 0.9998)$$

의 관계를 얻었다.

3.7 비성장속도

미세조류의 성장은 제한 영양조건에서 지체기, 대수성장기, 정체기, 사멸기의 네 가지 구간으로 나눌 수 있다. 성장 국성은 일반적으로 비성장속도 (specific growth rate)가 시간이 0에서 시작하여 지체기(lag time, λ)를 경과한 후 성장속도의 최대점 (μ)에 도달하게 된다. 그 후 성장은 영양소 고갈로 멈추게 되는데 즉 극한 값(Stationary phase)에 도달하게 된다. X 축을 t로 하고 Y축은 세균의 성장의 경우 로그개체군 (log population)으로 사용하여 본 연구에는 성장속도의 최대점을 식 (1)를 이용하여 계산되어진 비성장 속도 값 중 가장 큰 값을 사용하였다.

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

μ 는 비성장속도의 최대점 (day^{-1}),

X_0 는 초기 ($t=0$)

X 는 일정 배양 시간 후의 *T.suecica*의 극한 값 (cells/mL),

t는 배양 시간 (day)을 나타낸다.

제 4 장 결과 및 고찰

4.1 배양 중의 온도가 성장에 미치는 영향

미세조류의 성장은 종에 따라 다양한데, 일반적으로 광합성에 의한 성장 및 증식에 큰 영향을 받은 인자 중의 하나가 온도이다. 또 온도에 따라서 미세조류 성장에 큰 영향을 받는다. 최적의 온도에서 미세조류 효소들은 최대의 활성을 나타내기 때문에 온도별 실험을 수행했다. *T.suecica*의 최적 배양온도를 선별하기 위하여 조도를 3,000 lux로 고정시키고, 16°C, 18°C, 20°C, 22°C 및 24°C에서 8일간 배양하였을 때의 *T.suecica*의 증식 곡선을 Fig.1에 나타내었다. 최대 비성장속도는 24°C와 22°C이었을 때 0.87day⁻¹로 가장 컸으며, 20°C에서는 0.86 day⁻¹, 18°C에서는 0.62 day⁻¹, 16°C에서는 가장 낮은 0.44 day⁻¹이었다. 최대 비성장속도는 식(1)을 이용하여 산출하였다 (Table 6). *T.suecica*는 저온도에서 성장속도가 늦어지고 최적인 온도는 20°C ~ 22°C에서는 적절하다는 Chul, Won.K and Sung, Bum.H (1998)의 보고와 일치하는 결과였다. 이 종류는 이틀째부터 성장이 급격히 일어났지만 온도에 따라서 비성장속도에는 차이가 많이 나타난 것을 봤을 온도의 영향은 미세조류를 대량 배양했을 경우에 중요시 고려해야 할 인자라는 것을 알려 주었다.

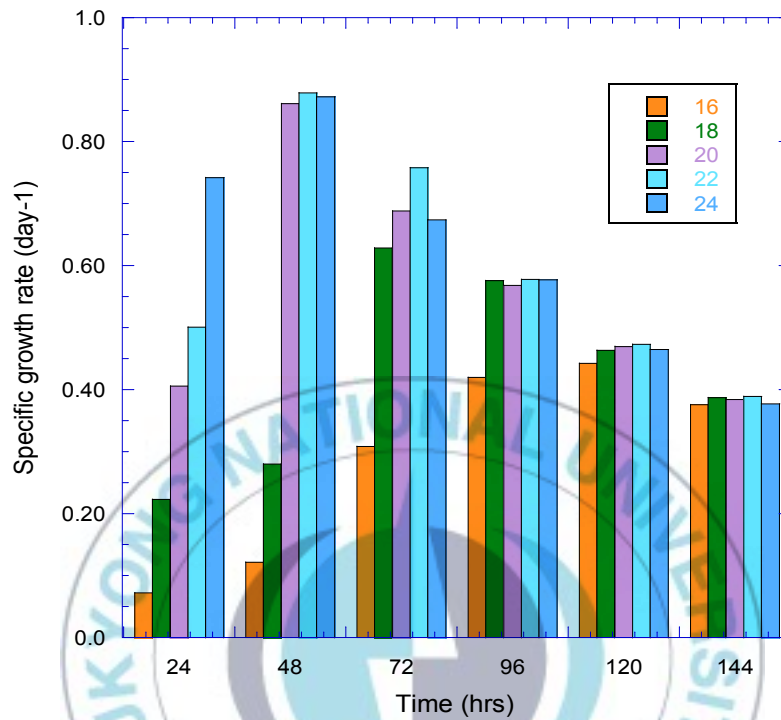


Fig 2. SGR of growth column *T.suecica* in a incubator at different temperature

Table 6. SGR of *T.suecica* in a incubator at different temperature (cells/mL)

시간/온도	16°C	18°C	20°C	22°C	24°C
0	-	-	-	-	-
24	0.072321	0.223144	0.405465	0.500775	0.741937
48	0.121473	0.279808	0.861383	0.878929	0.872421
72	0.308747	0.629023	0.687898	0.757375	0.673849
96	0.419274	0.575646	0.568031	0.578134	0.575646
120	0.442751	0.463495	0.46932	0.473112	0.464478
144	0.375653	0.387065	0.384595	0.388691	0.376961
168	0.323851	0.33177	0.334544	0.334544	0.341252
192	0.284016	0.287197	0.29628	0.295107	0.254163

4.2 배양 중의 파장이 성장에 미치는 영향

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(Rabinowitch, E., 1961). 따라서 본 연구에서 수직 관형 광생물 반응기 시스템을 이용하며 미세조류의 바이오매스를 극대화시키기 위해 4가지 파장을 통해서 미세조류 성장에 어떤 영향을 미치는지를 알아보도록

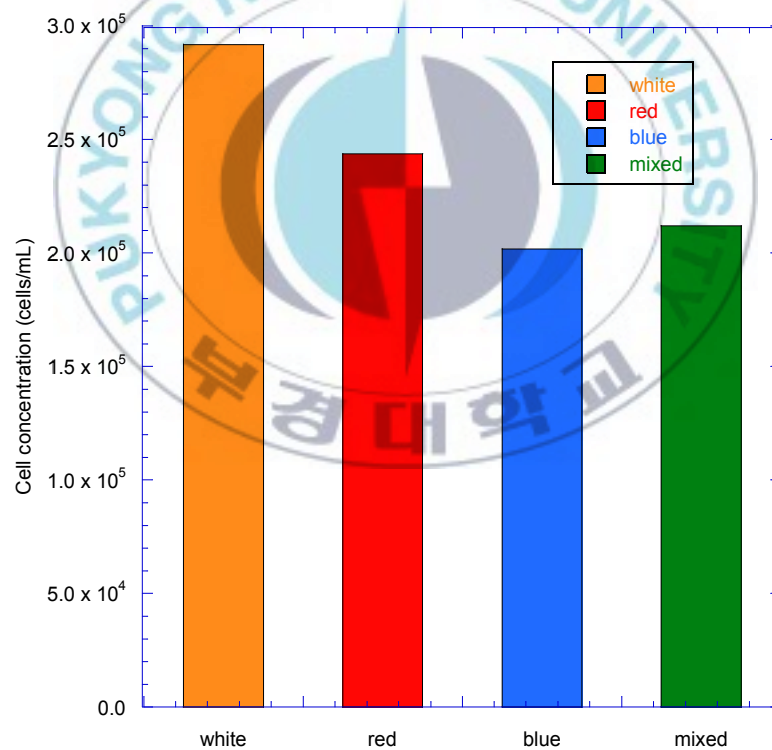


Fig. 3. Growth column of *T.suecica* in a photobioreactor at different LEDs

하였다. 그 결과는 각각 파장 별로 비성장속도는 White (0.72 day^{-1}), Red (0.58 day^{-1}), Mixed (0.49 day^{-1}), Blue (0.49 day^{-1})으로 감소하였으므로 White LED가 *T.suecica*의 배양에 가장 효과적인 증식 곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 파장에 따른 *T.suecica*의 배양에서 Blue, Mixed에서는 3.2×10^5 , Red에서는 3.7×10^5 , White에서는 4.0×10^5 의 각각 최대농도를 얻을 수 있었다 (Table 7). 이 실험도 온도별 실험과 비슷한 성장 형상을 보여 주었다.

Table 7. *T.suecica* in a photobioreactor at different LEDs (cells/mL)

Time (hrs)	White	Red	Blue	Mixed
0	40000	40000	40000	40000
24	73000	52000	47000	47000
48	$1.40\text{E}+05$	$1.15\text{E}+05$	$1.05\text{E}+05$	$1.25\text{E}+05$
72	$3.50\text{E}+05$	$2.30\text{E}+05$	$1.75\text{E}+05$	$1.75\text{E}+05$
96	$3.70\text{E}+05$	$3.30\text{E}+05$	$2.40\text{E}+05$	$2.70\text{E}+05$
120	$4.10\text{E}+05$	$3.50\text{E}+05$	$2.95\text{E}+05$	$2.95\text{E}+05$
144	$4.30\text{E}+05$	$3.50\text{E}+05$	$3.00\text{E}+05$	$3.20\text{E}+05$
168	$4.04\text{E}+05$	$3.48\text{E}+05$	$3.20\text{E}+05$	$3.15\text{E}+05$
192	$4.09\text{E}+05$	$3.78\text{E}+05$	$2.94\text{E}+05$	$3.20\text{E}+05$

4.3 배양 중의 광도가 성장에 미치는 영향

빛 에너지의 또 다른 성질인 빛의 강도가 너무 낮으면 광합성에 필요한 광자를 세포에 모두 공급하지 못하여 균체의 성장에 지장을 초래하고 되고, 빛의 강도가 너무 높으면 광산화반응을 자극시켜 광합성을 부분적으로 차감, 세포에 손상을 일으킴으로 성장률을 감소하게 된다(Thacker, D.R et al., 1957). 위에 실험에서 가장 효과적인 White LED 이용하여 조도기준으로 3,000 lux에서 최대 9,000 lux까지 변화시켜 다양한 빛 세기 조건에서 다음 실험을 수행했다. Fig 3.에 *T.suecica*의 배양 시에 초기 농도가

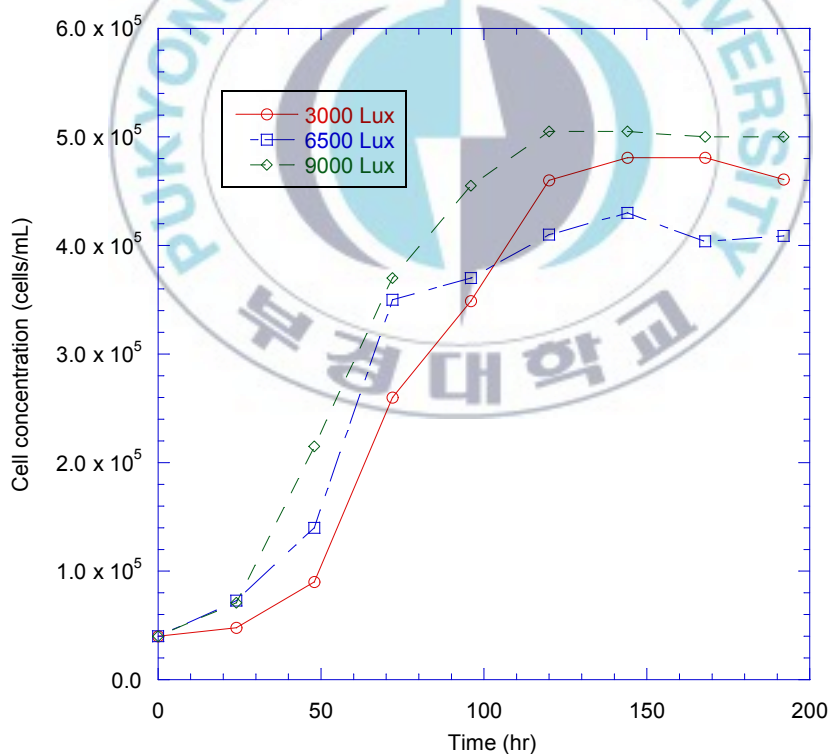


Fig. 4. Growth curves of *T.suecica* in a photobioreactor at different light intensity of LEDs

비슷했을 때 광도에 상관없이 4 일째에는 3,000 lux (0.62 day^{-1}), 6,500 lux (0.72 day^{-1}), 9,000 lux (0.74 day^{-1})에서 각각 가장 높은 비성장속도를 보였지만 최대 농도는 비슷하였다. 여기서 광도의 값이 증가함에 따라서 높은 비성장속도를 얻었을 수 있으므로 9,000 lux가 *T.suecica*의 성장에 좋은 인자로 선발하였다. 이론적으로 광량 증가는 세포에 손상을 일으킴으로 성장에 저해가 되지만 비교적으로 *T.suecica* 크기가 커서 광량의 증가는 오히려 성장을 촉진시켜 준다는 결론으로 사료된다.

Table 8. SGR of *T.suecica* in a photobioreactor at different light intensity of LEDs (cells/ml)

Time (hrs)	3000 lux	6500 lux	9000 lux
0	-	-	-
24	0.182322	0.60158	0.5738
48	0.405465	0.626381	0.840879
72	0.623934	0.723018	0.741541
96	0.541548	0.556156	0.607854
120	0.488469	0.465456	0.507136
144	0.414498	0.395818	0.422613
168	0.355284	0.330362	0.360818
192	0.305565	0.290604	0.315716

4.4 형광등과 LED 비교 배양

미세조류의 광 배양에 주로 많이 사용하였던 형광등을 이용하여 LED와 비교하기 위해 기존 형광등을 이용하여 *T.suecica*의 성장 특성을 살펴보았다. 배양 조건은 White LED를 이용한 실험조건과 같이 9,000 조도를 조절하였다. 이때 사용된 전력은 63W였으며 광량 $130\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 였다(Table 10). 이는 같은 조도에서 백색 LED의 광량이 더 크므로 광합성에 더 효율적이라는 것을 의미한다. 형광등에서 초기농도는 4×10^4 일때의 비성장속도는 0.64 day^{-1} 이었는데, 이는 같은 초기 농도일때의 백색 LED의 비성장속도

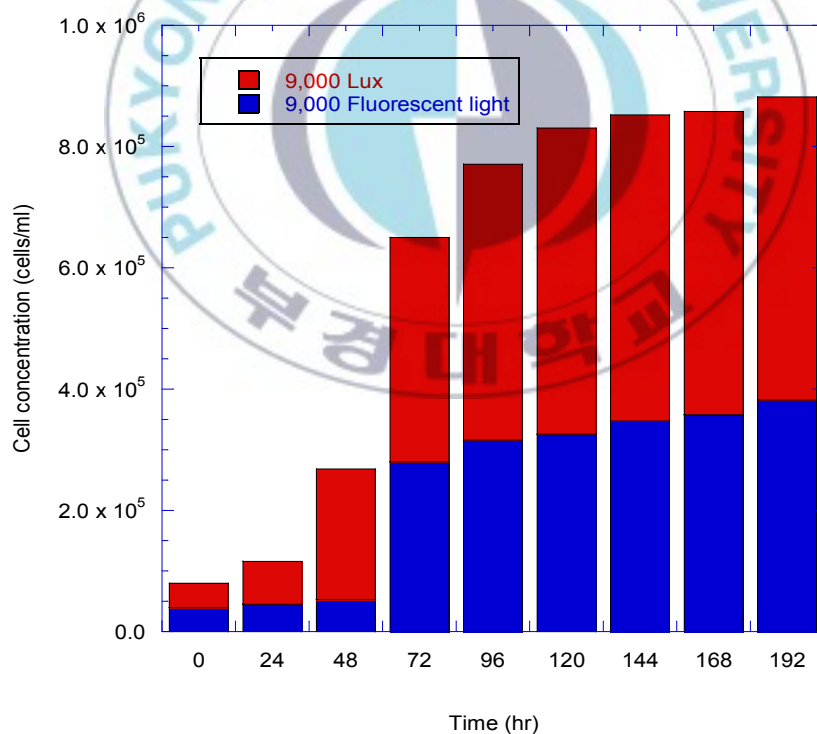


Fig. 5. Stack column *T.suecica* comparison of fluorescent and LEDs

0.84 day⁻¹ 보다 1.3배 작은 값이었다. 형광등을 LED 배양과 비교했을 때 성장 속도가 느리고 LED보다 효율성이 낮은 것을 Fig 4. 나타내었다.

Table 9. SGR of *T.suecica* comparison of fluorescent and LEDs

(cells/ml)		
Time (hrs)	9,000 lux (LED)	9,000 lux (Fluorescent light)
0	-	-
24	0.5738	0.117783
48	0.840879	0.140706
72	0.741541	0.648637
96	0.607854	0.516716
120	0.507136	0.419604
144	0.422613	0.360074
168	0.360818	0.313093
192	0.315716	0.282068

4.5 배양 중의 공기공급 속도가 성장에 미치는 영향

미세조류의 대량 배양할 경우에는 농도가 높아질수록 세포에 의한 그림자 효과를 인해서 빛이 반응기 내부에 깊숙이 침투하지 않음으로 성장이 제한된 형상을 막기 위해 공기를 주입함으로써 성장에 미치는 영향을 관찰하였다. 이 실험에서 배양 온도를 22°C 유지시키고, 조도 9,000 lux에서 공기의 공급속도를 0.8 vvm, 1.6 vvm, 2.4 vvm의 범위에서 달리하였을 때의 *T.suecica*의 성장 속도를 Fig 5.에 나타내었다. 공기 공급속도가 0.8 vvm일 때 μ 가 가장 커서 0.70 day^{-1} , 1.6 vvm 일 때 0.66 day^{-1} , 2.4 vvm 일 때 0.62 day^{-1} 였다. 즉, 공기속도가 빨라질수록 μ 가 작아지는 경향을 보였다.

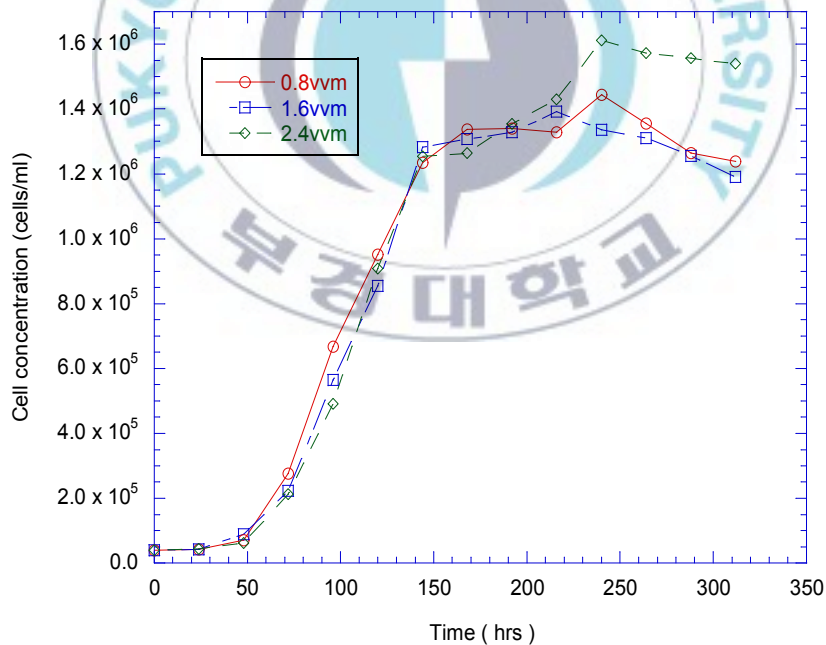


Fig. 6. Growth curves of *T.suecica* in a photobioreactor at the different aeration conditions

공기 주입 시를 공기를 주입하지 않는 경우와 비교를 했을 3.5배 높은 농도 얻을 수 있었다(Fig.6.). 미세조류의 배양에는 온도, 광도, 조도, 공기 공급량이 크게 영향을 미치지만 이런 조건을 갖춰 주었더라도 배양액 중의 용존 산소의 농도에 따라서 대량배양에 큰 영향을 준다(Weismann et al., 1987; Facundo et al., 1995).

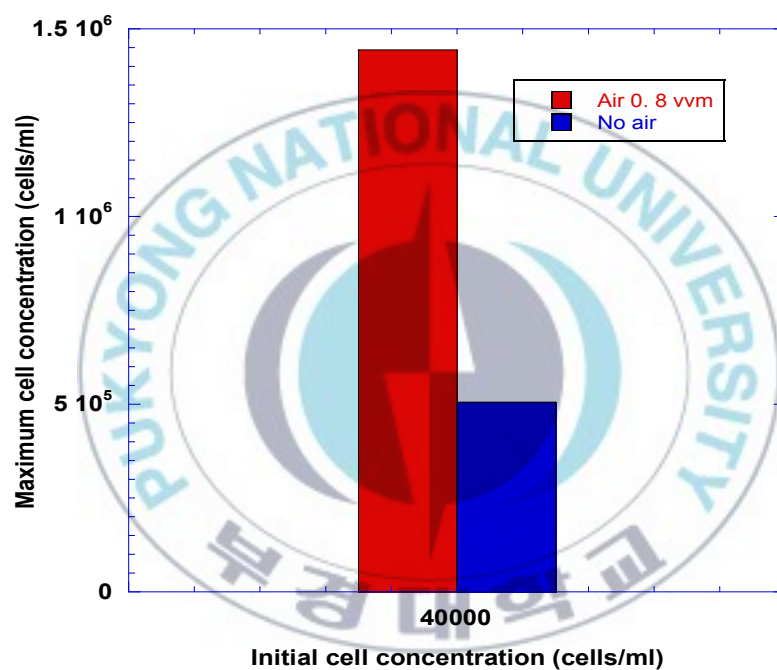


Fig. 7. Growth column of *T.suecica* comparison of air supply and no air supply

Table 10. SGR of *T.suecica* in a photobioreactor illuminated by 9,000 lux white LED at the different aeration conditions (cells/mL)

Time (hrs)	0.8 vvm	1.6 vvm	2.4 vvm
0	–	–	–
24	0.048790164	0.048790164	0.09531018
48	0.279807894	0.399878458	0.219127465
72	0.643840471	0.572764106	0.557470904
96	0.70385218	0.661986569	0.626891168
120	0.633937116	0.612210348	0.624362822
144	0.571522792	0.577947854	0.574202378
168	0.50143597	0.49819644	0.49330816
192	0.43894318	0.437818734	0.440242375
216	0.389172208	0.394401932	0.397394474
240	0.358629287	0.35085559	0.369635147
264	0.320310456	0.318413625	0.333747684
288	0.287763093	0.287233991	0.305082854
312	0.260337713	0.267312864	0.269426914

4.6 반연속 배양

반연속 배양은 기존 *T.suecica*가 최대 농도에 도달하였을 때, 용액의 일부를 새로운 용액으로 희석하여 배양하는 방법이다(Lee and Tae etc. 2005). 희석률을 나타내는 식은 다음과 같이 표시한다. 여기서, D 는 희석률, V_r 는 반응기에 운전되고 있는 배양액의 부피, V_n 은 치환된 용액의 부피를 의미한다.

$$D = V_n/V_r \quad (2)$$

이 실험에는 반연속 배양이 세포 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 주기적으로 0.5 비율로 해서 4주 동안 연구하였다. 실험 조건은 공급속도를 0.8 vvm 고정시키고, White Led를 이용하여 조도 9,000 lux, 광량 145 μ mol/m²/s에서 총 3회 희석을 하였으며, 이에 따른 *T.suecica*의 성장 곡선을 Fig. 7에 나타내었다. 배양 시 초기 배양 후 2~5일 동안 세포 급격히 증가하며 최대 농도에 도달했을 때 세포가 그림자 효과를 인해서 비성장속도가 감소하였다. 본 연구에서는 배양 후 7일 정도가 지났을 때 배양액 부피의 50%를 새로운 용액으로 교체해줌으로써 단위시간당 균체 생산량을 계속 유지 할 수 있도록 하였다.

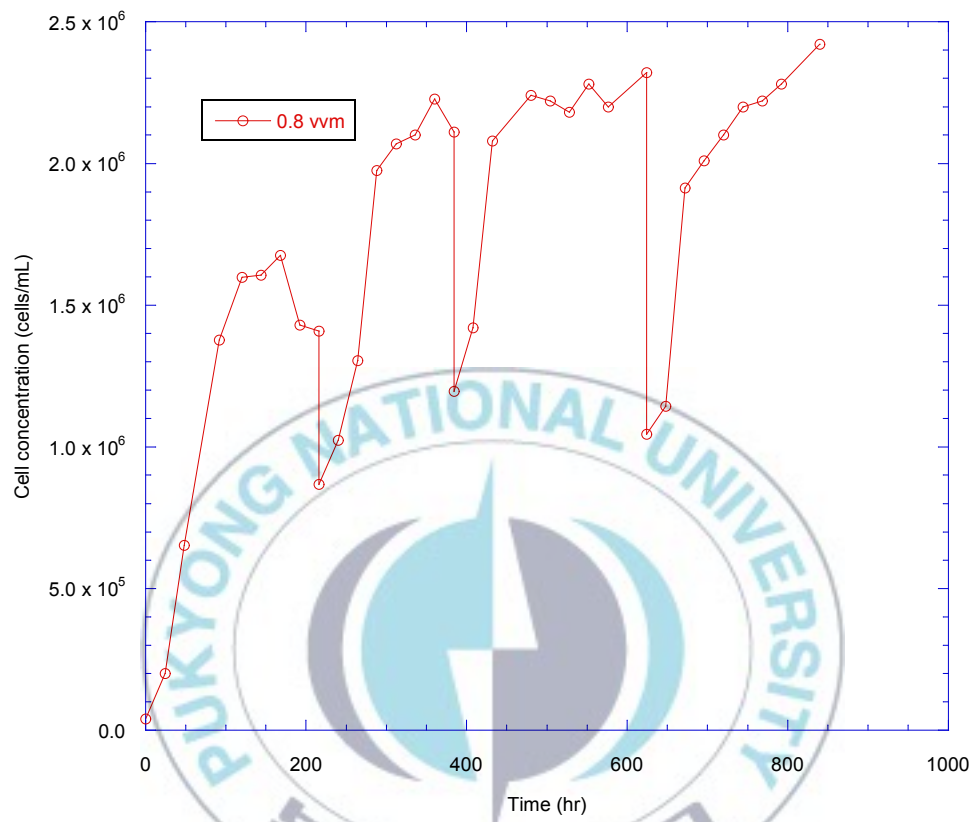


Fig. 8. Growth curves of *T.suecica* at semicontinuous culture

Table 11. Biomass production and specific growth rates *T.suecica* with different colored LEDs and fluorescent light at different temperature and differing test conditions.

Test set	LEDs	Light intensity		Specific growth rate (day ⁻¹)	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration	Biomass (g/L) ^b
		Lux	μmol/m ² /s				
1	Fluorescent light 16 temprature	3000	30	0.44	4.0×10 ⁴	3.8×10 ⁵	0.30
	Fluorescent light 18 temprature	3000	30	0.62	4.0×10 ⁴	4.0×10 ⁵	0.32
	Fluorescent light 20 temprature	3000	30	0.86	4.0×10 ⁴	4.2×10 ⁵	0.33
	Fluorescent light 22 temprature	3000	30	0.87	4.0×10 ⁴	4.2×10 ⁵	0.33
	Fluorescent light 24 temprature	3000	30	0.87	4.0×10 ⁴	4.3×10 ⁵	0.34
2	White	7000	101	0.72	4.0×10 ⁴	4.3×10 ⁵	0.34
	Red	1800	72	0.58	4.0×10 ⁴	3.5×10 ⁵	0.29
	Blue	1900	160	0.49	4.0×10 ⁴	3.2×10 ⁵	0.25
	Mixed (R1:W1:B1)	4000	110	0.49	4.0×10 ⁴	3.2×10 ⁵	0.25
3	LED White	3000	52	0.62	4.0×10 ⁴	4.8×10 ⁵	0.38
	LED White	6500	100	0.72	4.0×10 ⁴	4.3×10 ⁵	0.34
	LED White	9000	145	0.84	4.0×10 ⁴	5.0×10 ⁵	0.4
4	Fluorescent light	9000	130	0.64	4.0×10 ⁴	3.8×10 ⁵	0.3
5	White+Air ^a (0.8vvm)	8000	130	0.70	4.0×10 ⁴	1.4×10 ⁶	1.15
	White+Air(1.6vvm)	8000	130	0.66	4.0×10 ⁴	1.3×10 ⁶	1.11
	White+Air(2.4vvm)	8000	130	0.62	4.0×10 ⁴	1.6×10 ⁶	1.28

^a CO₂ concentration in air is about 0.03%

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

제 5 장 결론

본 연구에서는 *Tetraselmis suecica*의 최적화 조건을 얻음으로써 바이오매스를 극대화시키기 위해 LEDs를 이용하여 광생물반응기를 직접 구축해서 실험을 수행하였다. 또한 실험 대상으로 효과적인 배양하기 위한 온도별 배양, 광원을 선정하고자 다양한 파장의 LEDs와 혼합형식의 LED를 이용하여 배양을 하였다. 본 연구의 결과를 통해 최적 파장의 LED를 찾아낼 수 있었으며, 공기를 주입 시 배양액 내에 교반이 이루어짐으로써 광이 지속적으로 침투가 가능하여 배양효율을 증가시킬 수 있었다. 미세조류의 광배양에 주로 많이 사용하였던 형광등을 LED와 비교하였을 때 성장 속도가 느리고 LED보다 효율성이 낮았다. 위와 같은 조건을 맞추었으므로 최종적으로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 일반적으로 광합성에 의한 성장 및 증식에 큰 영향을 받은 인자가 온도이다. 최적의 온도에서 미세조류 효소들은 최대의 활성을 한다. 본 실험에서는 수온이 18⁰도 이하일 때 증식속도가 잘 일어나지 않았으며, *T.suecica*의 최적 배양 온도는 20~24⁰도 확인되었다.

2) 미세조류의 가지고 있는 색소에 따라서 흡광특성은 그 색소가 어떤 파장의 빛을 얼마만큼 흡수하는지를 나타내기 때문에 LEDs를 이용하여 적색, 백색, 청색, 혼합1 (적색1: 백색1:청색1) 형태의 배양 실험을 수행한 결과로 백색 LED에서의 성장속도가 가장 빨랐다. 그 결과는 각각 파장 별로 비성장속도는 White (0.72 day⁻¹), Red (0.58 day⁻¹), Mixed (0.49 day⁻¹), Blue (0.49 day⁻¹)으로 감소하였으므로 White LED가 *T.suecica*의 배양에

가장 효과적인 것을 알 수 있었다.

3) 본 실험에서 광량을 3,000-9,000 lux까지 달리하여 수행하였으며 광량이 올려질 수록 *T.suecica* 비성장속도 증가로 이어졌으나, 9,000 lux 에서 최대 비성장속도 및 최대 셀농도를 얻을 수 있었다. *T.suecica*는 파른 미세조류와 비교적 크기가 커서 광량을 올려 줌으로써 광합성 활동 잘 일어난다는 것으로 사료된다.

4) 기준 형광등을 9,000 lux로 고정시켜 White LED와 비교 실험한 결과로 White LED는 비성장속도는 0.84 day^{-1} 및 최대 셀농도는 5.0×10^5 로 형광등에 비해 1.3배 높은 바이오매스를 얻을 수 있었다. 따라서, White LED가 형광등에 비해 배양에 적절한 광원임을 확인하였다.

5) 백색 LED를 이용한 배양에서 공기를 주입한 결과로 초기 3일까지는 성장률이 비슷하였다. 4일째부터 공기를 주입하지 않은 경우보다 성장률이 증가하였으며 최대세포농도는 또한 3.5 배 이상 높았다. 이는 공기를 공급하면 반응기 내부의 그림자효과를 방지해 주고 반응기 외부에서 광원이 세포에 원활히 공급이 되어, 또한 이산화탄소의 공급은 광합성 활동에 촉진되어 일반 배양보다 높은 바이오매스를 얻을 수 있다.

감사의 글

한국에 온지 엿그제 같은데 벌써 2년이 지났습니다. 처음 한국에 와서 몽골과 생김새가 비슷하고 생활하는 방식도 유사하다는 생각을 많이 했습니다. 하지만 2년 동안 한국에서 살다 보니까 처음 생각했던 것보다 너무나 달랐습니다. 넓지 않은 땅에 인구가 많은데다가 어디든 경쟁률도 높고 그리고 남들보다 높은 조건을 갖추지 못한다면 이 사회에서 살아가기 힘들다는 것을 많이 느꼈습니다. 몽골에 돌아가도 경쟁이 높은 것은 마찬가지지만, 여기서 생활하면서 아무리 힘들고 어려운 일이더라도 열심히만 하면 해낼 수 있다는 자신감을 얻었습니다. 유학 생활하면서 앞으로 살아가는 데 이런 좋은 교훈을 알아차릴 수 있게 도움을 주신 모든 분들에게 감사의 말씀을 전합니다.

먼저 많이 부족한 저를 한 제자로써 받아 주시고 아낌없는 가르침과 조언을 주신 지도교수 이태윤 교수님에게 진심으로 감사를 드립니다. 처음에는 외국학생임에도 불구하고 한국 학생과 마찬가지로 똑같이 공부해야 된다는 게 부담이 되고 힘들었지만 오히려 저를 공부하는데 더 촉진시켜 줄 수 있는 큰 힘이 되었습니다. 그리고 이제근 교수님, 이병현 교수님, 여석준 교수님, 김일규 교수님, 강임석 교수님, 김상단 교수님께도 감사의 말씀을 전합니다.

그 동안의 기쁘고 슬픈 일이 있었을 때 옆에서 많이 도와 준 예쁘고 착한 동생 람보 (최보람), 분위기를 확 바꾸어 웃게 만든 김자현, 게임 실력이 장난 아닌 우혜영, 마음 착한 고경완, 막내로 실험실에 들어온 가족 박상민

(이상민)에게 특별히 감사를 전합니다. 그리고 모든 환경공학과 학생들에게 향후의 일을 잘 해나기를 기원합니다.

유학 생활한 동안 늘 걱정하시고 지원을 해 주신 대학원 행정실 손진성 선생님, “Sunny Home school” 선생님 윤선경, 김광섭 과정님, “함께 하는 세상” 소장님 이수찬, 심현보, 심현보님의 가족에게 늘 건강하시고 행복하기를 소원합니다. 그리고 우리 몽골 패밀리의 주인공 Sugarbayar, 사고가 많지만 잘 해결하는 Enkhtungalag, 에너지 넘치는 Tsendsuren, 배려가 많은 Enkhzaya, 가족으로써 우리에게 좋은 모범을 보여주신 Munkhbaatar, Enkhzaya의 가족에게 학위를 잘 마치고 꿈을 이루어지기를 바랍니다.

하늘에서 늘 걱정하셔서 절 응원해주신 아버지와 제 곁에서 늘 믿어주시고 응원해 주신 사랑하는 어머니, 외할머니, 항상 옆에서 챙겨 주시고, 도움을 주신 사랑스러운 오빠와 남동생, 친척 분들에게 진심으로 감사를 드립니다. 사랑합니다.

마지막으로 지면으로 통해서 감사를 전하지 못하지만 그 동안 저를 아끼고 사랑해주신 모든 분들에게 다시 한번 진심으로 감사드립니다.

참고문헌

1. Austin B., J.G., Inhibition of pawn pathogenic *Vidrio* spp. by a commercial soray dried preparation of *Tetraselmis suecica*. *Aquaculture* 90, p389-392 (1990)
2. Austin B., Bauder E., Stobie, M.B.C., Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. *J Dis.* 15, p55-61 (1992)
3. Banat J., K. Puskas, I Esen, and R. Al-Dahar, Wastewater treatment and algal productivity in an integrated ponding system. *Biol. Wastes*, Vol.32, p265-275 (1990)
4. Bula, R.J., Morrow, T.W., Tibbitts, T.W., Barta, D.J., Ignatius, R.W., Martin, T.S., Light-Emitting diodes as a radiation source for plants. *HortSci* Vol.120, p808-813 (1991)
5. C.-Y.Park, K.-S. Lim, and W.-H.Beak, *Proceedings of the KIEE Conference*, p938 (2009)
6. Carballo-Cardenas, E.C., Tuan, P.M., Janssen, M., Wijffels, R.H., Vitamin-E production by marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. *Biomol. Eng.*20, p139-147 (2003)

7. Chul.Won.K. and Sung.Bum.H 대량 배양에 적합한 Tetraselmis 종의 선택 *Journal of Aquaculture* 11 (2) p231-240 (1998)
8. J.-H.Chung, S.-G.Song, S.-J. Park, Y.-H.Chang, and C.-J. Moon, The Transactions of the Korean Institute of Power Electronics, Vol.11, p201 (2006)
9. Hall, D. O. and J. I. House, Reducing atmospheric CO₂ using biomass energy and photobiology. *Energy Convers. Manag.*, Vol.34, p889-896 (1993)
10. H.J.Ryu, J-S. Lee, and K.K.Oh, *Korean Journal of Biotechnol. and Bioengineering*, Vol.19, p257 (2004)
11. Irianto, Austin., Austin, B., Probiotics in aquaculture. *J. Dis.* 25, p633-642 (2002)
12. Guschina, I.A and J.L Harwood Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Prog. Lipid Res.* 45 p160-186 (2006)
13. Gyung-Soo Park, Sang-Hee Lee, Seung-min Lee, Phytoplankton as standard test species for marine ecotoxicological evaluation *Journal of the Environmental Sciences* Vol.12 p1129-1139 (2005)

14. Karube, T., T. Takeuchi and D. J. Barnes, Biotechnological reduction of CO₂ emissions *Adv. Biochem, Eng/Biotechnol.*, Vol.46, p63-79 (1992)
15. Kim J., Y. Joo, H. and Lee, J., H (Carbon dioxide fixation and light source effects of spirulina platensis NIES 39 for LED photobioreactor Design, *Appl. Chem. Eng.*, Vol.22, (3) p301-307 (2011)
16. Kanetsuna, Y., "New and interesting Desmids (Zygnematales, Chlorophyceae) Collected from Asia," *Phycological research*. 50 (2), p101-113 (2002)
17. Lee, C. G Calculation of light penetration depth in photobioreactor, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* Vol.4, p78-81 (1999)
18. Muller-Feuga, A., Robert, R., Cahu, C., Pobin, J., Divanach, P., Uses of microalgae in aquaculture. In: Stottrup, J.G., McEvoy, L.A(Eds), *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell, Oxford, p253-299 (2003)
19. Rabinowitch, E, Medical and Biological Aspects of the energies of space, In: P.A Cambell, ed, (1961) p274-298, Columbia University Press, New York
20. Svoboda, I. F. and H.J. Fallowfield, An aerobic piggery slurry treatment system with integrated heat recovery and high-rate algal

pond. *Wat. Sci. Technol.*, Vol.21, p277-287 (1989)

21. S. Oncel and F, Vardar Sukan, Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Artrospira platensis* (*Spirulina platensis*). *Bio, Technol.*, Vol.99, p47-55 (2008)

22. S.-G. Jung, H.-J.Kim. and H.Kim, Proceedings of the Korean Institute of Illuminating and electrical Installation Engineers Conference, p117 (2009)

23. Thacker, C.F and W. D. Stephen, Bioprocess Technology: fermentation, biocatalysis, bioseparation, John willy&Sons Inc. p395-419 (1999)

24. T. Matsunaga, H. Takeyama, H. Sudo, N. Oyama, S.Ariura, H. Takano, Hirano, J.G. Burgess, K.Sode, and N.Nakamura, *Appl. Biochem, Biotechnol.*, Vol.28, p157 (1991)

25. Young-Kwan Lim, Seong-Cheol Shin, Eui-Soon Yim, and Heung-Ok Song, 바이오디젤의 효과적 생산방법 *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, Vol. 19, No. 2, p137-144 (2008)

26. Yun, Y. S., S. B. Lee, J.M. Park, C. I. Lee and J.W. Yang, Carbon

dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, Vol.70, p451-455 (1997)

27. Y.Chisti., Biodiesel from microalgae *Biotechnology Advances* Vol. 25 p294-306 (2007)

28. Volesky, B, *Biosorption of Heavy Metals*. CRC Press, Boca Raton, FL. (1990)

29. Wilde, E. W. and J. R. Benemann, Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotechnol. Adv.*, Vol.11, p781-812 (1993)

30. 강병철, 강순태, 왕희지, 서지원, 김창훈, 조만기, Chlorella sp.의 광합성과 균체 성장에 대한 kintec model의 적합도 분석 *Journal of Life Science* Vol.18, No.5, p674-679 (2008)