

Research Note

대체 단백질 식품 소재로서 미세조류 생산 증대를 위한 배양 조건 최적화 연구

오해원 · 이승환*

국립안동대학교 식품생명공학과

A Study on the Optimization of Culture Conditions to Increase Microalgae Productivity as Alternative Protein Food Material

Hae Won Oh and Seung Hwan Lee*

Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University

Abstract

Protein is an essential nutrient for humans to sustain life, but it is predicted that it will be challenging to secure protein through the traditional livestock industry in the future. Microalgae has high future value as an alternative protein food source due to resource utilization and sustainability advantages. In order to increase productivity, the culture conditions of microalgae, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, and *Scenedesmus obliquus* were examined in this study. The optimal culture conditions of *C. vulgaris* were mixotrophic culture, 25°C culture temperature, 7.0 initial pH, 10% initial inoculation, stirring culture, 3000 Lux light intensity, and 24L:0D light/dark cycle period with red LED. For *D. salina*, the optimal culture conditions were mixotrophic culture, 20°C culture temperature, 8.0 initial pH, 10% initial inoculation, stirring culture, 6000 Lux light intensity, and 12L:12D light/dark cycle period with white LED. For *S. obliquus*, the optimal culture conditions were mixotrophic culture, 30°C culture temperature, 8.0 initial pH, 10% initial inoculation, stirring culture, 4500 Lux light intensity, and 14L:10D light/dark cycle period with fluorescent light. These findings can be used as important information for increasing the production of microalgae as an alternative protein material resource in the future.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Scenedesmus obliquus*, cultivation condition

서 론

2050년까지 세계 인구는 약 72억 명에서 약 95억 명으로 약 23억명이 증가할 것으로 예상되며, 이에 따라 식량 생산량은 약 70%가 증가해야 한다(Godfray et al., 2010). 그러나 이전에 활용된 농업 생산 방법은 자연 서식지 파괴, 생물 다양성 위협, 토지 개간으로 인한 온실가스 발생, 비료 및 가축 생산 등 환경에 미치는 영향이 크기 때문에 식량 생산 요구를 충족하기 위한 새로운 친환경적인 식량 공급원이 필요하다(Tilman et al., 2011). 단백질은 사람이 생명을 유지하기 위해 필수적으로 필요한 3대 영양소 중 하나로 단백질 수요는 인구 증가와 함께 계속 증가할 것으로 보인다. 그러나 지구 온난화로 인한 자원 고갈과 식품 생산량의 한계로 전통적인 축산업에 의존한 육류 생산으로

는 단백질 확보가 어려울 것으로 예상된다(Park, 2021; Cho & Ryu, 2022). 이에 따라 동물성 기반 단백질을 대체 하기 위한 연구 개발 필요성이 점차 높아지고 있다. 현재 가장 대표적인 대체 단백질 주원료는 대두, 완두, 녹두와 같은 식물성 단백질이 있으며, 미세조류, 곤충 역시 활용 가능한 소재로 알려져 있다(Asgar et al., 2010). 이러한 연구 흐름에 따라 다양한 대체 단백질 소재가 등장하고 있는데 이 중 미세조류는 자원 활용성과 지속가능성의 장점이 있어 대체 단백질 식량원으로서 미래 가치가 높다. *Chlorella* 종과 *Spirulina* 종 등 대부분의 미세조류 종은 고기, 계란, 콩, 우유와 같은 전통적인 단백질 공급원과 유사한 수준의 단백질을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Fleurence, 1999; Sousa et al., 2008).

미세조류는 광합성 대사를 통해 성장하는 단세포 미생물로 이산화탄소를 탄소원으로 이용하여 탄수화물, 단백질, 지질을 합성할 수 있는 식물 바이오매스 자원이다(Jeon et al., 2008; Joo et al., 2015). 기존의 곡물 자원보다 광합성 효율이 높고 빠른 성장 속도와 짧은 세대시간을 가진다는 특징이 있으며 특히 단백질 함량과 지질 함량이 높다(Miao & Wu, 2006; Choi et al., 2012). 미세조류의 구성

*Corresponding author: Seung Hwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University, 1375 Gyeongdong-ro, Andong-si, Gyeongsangbuk-do 36729, Korea
Tel: +82-54-820-5492; Fax: +82-54-820-6264
E-mail: leesh@anu.ac.kr
Received October 11, 2023; revised November 8, 2023; accepted November 20, 2023

성분 중 지질을 제외하면 많은 부분을 차지하는 것은 단백질로서, 단백질 함량이 높을 뿐 아니라 아미노산 조성 또한 우수하여 미래지향적 소재 자원으로 주목할 만 하다 (Lee et al., 1999). 그러나 현재 미세조류를 이용한 상업적 응용 분야는 폐수 처리, 바이오 연료, 고부가가치 산물 생산 등 환경, 에너지, 화학 분야에 국한되어 있다 (Chew et al., 2017). 지금까지 미세조류에 대한 선행 연구는 색소물질 생산 (Kang et al., 2023), 축산 폐수처리 (Park et al., 2019), 수질 개선 (Kim et al., 2018), 바이오 디젤 생산 (Shin et al., 2016) 등으로 주로 하수 및 폐수 처리에서의 영양 염류 제거, 미세조류를 이용한 바이오 오일 생산에 초점을 두고 있다. 미세조류 바이오매스와 부가가치 화합물은 경제적으로 가치가 있어 매년 매출액이 증가하고 있으며 미세조류는 단백질 자원으로서도 연구가 지속되어야 한다 (Pulz & Gross, 2004). *Chlorella* 종과 *Spirulina* 종은 건강기능성 식품으로, *Dunaliella* 종은 기능성 지질 식품으로 연구, 산업화되고 있으나 식품 단백질 소재로서 미세조류의 사용은 현재까지 제한적이다. 단백질 소재로 확대하기 위해서는 생산성 향상이 매우 중요하며 가장 기초가 되는 미세조류의 다양한 배양 조건에 대한 비교 연구가 필요하다.

미세조류는 광원 뿐만 아니라 산소, 이산화탄소, pH, 온도, 배지 성분, 교반 속도 등 여러가지 요인들에 의해서 세포 성장과 이차대사산물 생산량이 결정된다. 대체 단백질 소재로서 미세조류의 생산성을 고려한다면 배양 환경 인자들의 최적화가 필수적이다 (Schenk et al., 2008; Jo & Cha, 2010). 미세조류 배양에 대한 선행 연구를 보면, Choi et al. (2013)은 LED 파장, 광도, 공기주입에 따른 배양 최적화, Park et al. (2020)은 접종 농도에 따른 배양 최적화, Jeong et al. (2016)은 배양 방법에 따른 배양 최적화, Joo et al. (2015)은 광도, 광과장에 따른 배양 최적화 등을 진행하였으나 복수의 환경 인자를 함께 고려한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 단백질 함량이 높다고 잘 알려진 *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Scenedesmus obliquus*의 생산량 증대를 목적으로 배양 방법, 배양 온도, 배양 초기 pH, 교반 여부, 광도, 광주기, 파장, 초기 접종량, 배양 규모가 미세조류 성장에 미치는 영향을 비교하고, 최적화하여 미세조류를 대체 단백질 자원 소재로 활용하기 위한 기초 연구로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 3종의 미세조류 *Chlorella vulgaris* (AG10032), *Dunaliella salina* (AG60854), *Scenedesmus obliquus* (AG10047)는 생물자원센터(Korean Collection for

Type Cultures, KCTC)에서 분양 받았다. 일반적으로 *Chlorella vulgaris*는 단백질 함량 51-58%, *Dunaliella salina*는 57%, *Scenedesmus obliquus*는 50-55%라고 알려져 있다 (Abakoura & Christophe, 2016; Kumar et al., 2022). 배양 배지는 *C. vulgaris*와 *S. obliquus*는 BG11 (Allen, 1968), *D. salina*는 f/2 (Ryther & Guillard, 1962)를 제조하여 고압 멸균기(AC-100, Hanyang Science Lab Co., Ltd, Korea)를 이용해 121°C에서 15분간 멸균하여 실험에 사용하였다. 종균은 250 mL 삼각 플라스크에 100 mL 배지와 분양 받은 균주 10 mL를 넣고 온도 25°C, 3000 Lux 광도로 24시간 빛 공급, 교반 속도 120 rpm, 공기 주입은 하지 않는 조건, 초기 접종 농도 1.0×10^6 cells/mL로 수행되었으며, 계대 배양은 일주일 간격으로 수행하였다.

배양 조건 최적화

배양 방법

배양 방법은 자가영양배양(Autotrophic culture), 타가영양배양(Heterotrophic culture), 혼합영양배양(Mixotrophic culture)으로 하였다. 자가영양배양은 탄소원을 제공하지 않고 광원으로 배양하는 방법이고, 타가영양배양은 광원을 제공하지 않고 탄소원만을 제공하여 배양하는 방법이며, 혼합영양배양은 광원과 탄소원을 모두 제공하는 조건에서 배양하는 방법이다 (Jeong et al., 2016). 본 연구에서는 최적 배양 방법을 확립하기 위해 자가영양배양, 타가영양배양, 혼합영양배양 조건을 설정하여 7일 동안 배양하였다. 배양 방법에 따른 성장 양상을 알아보기 위하여 온도 25°C, 3000 Lux 광도로 24시간 빛 공급, 교반 속도 120 rpm, 공기 주입은 하지 않는 조건을 기본 조건으로 설정하여 실험을 진행하였다.

배양 온도

본 연구에서는 최적 배양 온도를 확립하기 위해 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C으로 온도 조건을 설정하여 7일 동안 배양하였다. 온도에 따른 성장 양상을 알아보기 위하여 온도를 제외한 나머지 조건은 동일하게 고정하였다.

배양 초기 pH

본 연구에서는 배지의 최적 초기 pH 조건을 확립하기 위해 pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0, 9.0으로 설정하여 7일 동안 배양하였다. 배양액 초기 pH에 따른 성장 양상을 알아보기 위하여 pH를 제외한 나머지 조건은 동일하게 고정하였다.

교반 여부

본 연구에서는 교반 여부에 따른 성장 영향을 알아보기 위해 진탕 배양기(Daihan scientific, WIS-010, Korea)를 이용하여 교반 속도 120 rpm 조건과 정지 배양 조건으로 나누어 10일 동안 배양하였다. 교반 여부에 따른 성장 양상을 알아보기 위하여 교반을 제외한 나머지 조건은 동일하게 고정하였다.

광도

본 연구에서는 배양기(LTE-510, EYELA, Tokyo, Japan) 내부 환경에서 광원 미제공, 1500, 3000, 4500, 6000 Lux 조건으로 변화하여 20일 동안 성장 양상을 실험하였다.

광주기

광주기는 빛 공급에 있어서 명반응(L):암반응(D)으로 본 연구에서는 24L:0D, 16L:8D, 14L:10D, 12L:12D, 10L:14D, 0L:24D 조건으로 10일 동안 성장 양상을 실험하였다.

파장

본 연구에서는 파장에 따른 성장 속도를 비교하기 위해 광원으로 Red LED (660 nm), Blue LED (450 nm), White LED, Mixed LED (Red:Blue:White = 1:1:1), Fluorescent light을 사용하였다. 투입 전력은 60 W로 모두 일정하지만 White LED는 6200 Lux, Red LED는 2600 Lux, Mixed LED는 2300 Lux으로 다른 조도 값을 가졌다.

초기 접종량

본 연구에서는 초기 접종량이 따른 영향을 알아보기 위해 초기 농도 1.0×10^6 cells/mL을 접종액으로 하여 초기 접종량을 배지의 10%, 20%, 30%, 50%, 70% (v/v)으로 설정하여 7일 동안 배양하였다. 초기 접종량에 따른 성장 양상을 알아보기 위하여 접종량을 제외한 나머지 조건은 동일하게 고정하였다.

배양 규모

본 연구에서는 배양 규모에 따른 성장 속도를 비교하기 위해 배양 용기를 250 mL, 1 L, 2 L, 5 L, 10 L 조건으로 설정하여 14일 동안 배양하였다.

미세조류 성장 측정

세포 농도(cells/mL)를 측정하기 위해 혈구계수기(Hemocytometer)를 이용하여 광학 현미경(DMi1, Leica, Leica Microsystems Wetzlar, Germany)으로 직접 계수하였다. Cell counting은 일정량의 세포 부유액을 눈금 안에 보이는 cell 수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당 세포 수(cell/mL)를 계산하였다. 결과 값은 배양액 10 μ L를 취하여 3회 반복한 평균값으로 세포 수를 구하였다.

결과 및 고찰

배양 방법에 따른 성장 비교

배양 방법에 따른 미세조류의 성장 정도를 알아보기 위

하여 자가영양배양, 타가영양배양, 혼합영양배양 배양 방법을 사용하여 배양하였다. 탄소원과 광원을 모두 제공한 혼합영양배양 방법에서는 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus* 3종의 미세조류 모두 9.483×10^6 cells/mL, 5.529×10^6 cells/mL, 4.123×10^6 cells/mL 결과를 보여 배양 방법 중 가장 높은 세포 밀도를 보였다(Table 1). 또한 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus* 3종의 미세조류 모두 자가영양배양 방법으로 7일 동안 배양 결과 각각 5.173×10^6 cells/mL, 3.874×10^6 cells/mL, 2.694×10^6 cells/mL이 측정되어 탄소원이 없는 환경에서 광합성만으로 성장하는 자가영양배양이 가능함을 보였다. 특히 *D. salina*, *S. obliquus*는 자가영양배양이 타가영양배양 보다 높은 세포 밀도를 확인할 수 있었다. 그러나 자가영양배양 방법에서는 배양기간 7일 동안 높은 세포 밀도까지 도달하지 못하였고, 배양 시간과 광원에 대한 효율을 고려하였을 때 적합한 방법이 아니라고 판단되었다. 배양 방법에 따른 성장 비교 결과, 높은 수율의 미세조류 생산을 위해 가장 적합한 배양방법은 혼합영양배양인 것으로 나타났다. 본 실험 이후에는 혼합영양 배양 방법을 선택하여 실험을 진행하였다.

배양 온도에 따른 성장 비교

미세조류의 성장은 종에 따라 조건이 상이한데 일반적으로 광합성에 의한 성장에서 온도는 매우 중요한 조건 요소이다. 적절한 온도 설정은 미세조류의 증식을 최대로 증대 시킬 수 있는 방법이다(Choi & Lee, 2011). 온도에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 세포 성장 정도 결과를 나타내었다(Fig. 1). *C. vulgaris*의 경우 25°C에서 7.279×10^6 cells/mL으로 가장 높은 세포 밀도를 보였으며 다음으로 30°C 6.638×10^6 cells/mL, 35°C 5.919×10^6 cells/mL, 20°C 5.932×10^6 cells/mL, 15°C 2.911×10^6 cells/mL 순으로 나타났다. *D. salina*의 경우 20°C에서 6.313×10^6 cells/mL으로 가장 높은 세포 밀도를 보였으며 25°C 5.924×10^6 cells/mL, 30°C 5.332×10^6 cells/mL, 35°C 3.299×10^6 cells/mL, 15°C 2.811×10^6 cells/mL 순으로 나타났다. *S. obliquus*의 경우 30°C에서 4.425×10^6 cells/mL으로 가장 높은 세포 밀도를 보였으며, 25°C 4.123×10^6 cells/mL, 35°C 2.865×10^6 cells/mL, 20°C 2.291×10^6 cells/mL, 15°C 1.887×10^6 cells/mL 순으로 나타났다. *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus* 모두 15°C 저온 환경에서는 성장이 느린 것을 확인하였다.

Table 1. Effect of cultivation methods on the cell growth of microalgae

Cultivation methods	Cell density ($\times 10^6$ cells/mL)		
	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Scenedesmus obliquus</i>
Autotrophic culture	5.173	3.874	2.694
Heterotrophic culture	6.680	3.705	2.483
Mixotrophic culture	9.483	5.529	4.123

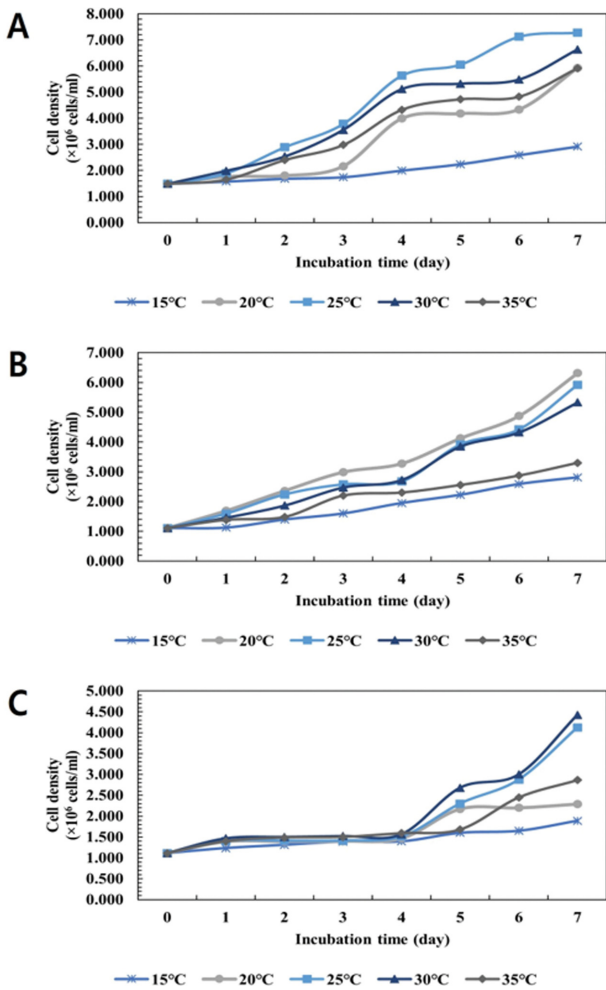


Fig. 1. Effect of cultivation temperatures on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

배양 초기 pH에 따른 성장 비교

미세조류 배양에서 배지 안의 pH는 미세조류의 조절, 광합성 등 모든 요인에 영향을 미친다. pH에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 증식을 나타내었다(Fig. 2). *C. vulgaris*의 경우 pH 3.0과 9.0에서는 성장이 현저하게 저조했으며, pH가 너무 낮거나 높은 경우는 미세조류 성장에 필요한 포도당을 축적하기 어려워 폐사할 가능성이 있다고 알려져 있다. 결과적으로 pH 7.0에서 7.979×10^6 cells/mL으로 세포 밀도가 가장 높았다. pH 6.5는 7.779×10^6 cells/mL으로 pH 7.0 보다 약간 낮은 성장을 보였지만 거의 차이 없이 비슷한 증식을 나타내었다. 실험 결과 *C. vulgaris*의 증식에서는 pH 6.5와 pH 7.0가 미세조류 성장에 최적 pH임을 알 수 있었다. *D. salina*의 경우 앞서 *C. vulgaris*와 유사하게 pH 3.0과 9.0에서는 성장이 현저하게 저조했고, pH 8.0에서 6.313×10^6 cells/mL으로 가장 높은 성장을 보였다. *S. obliquus*의 경우 앞서 *C. vulgaris*와 유사하게 pH 3.0과 9.0에서는 성장이 현저하게 저조했고, pH 8.0

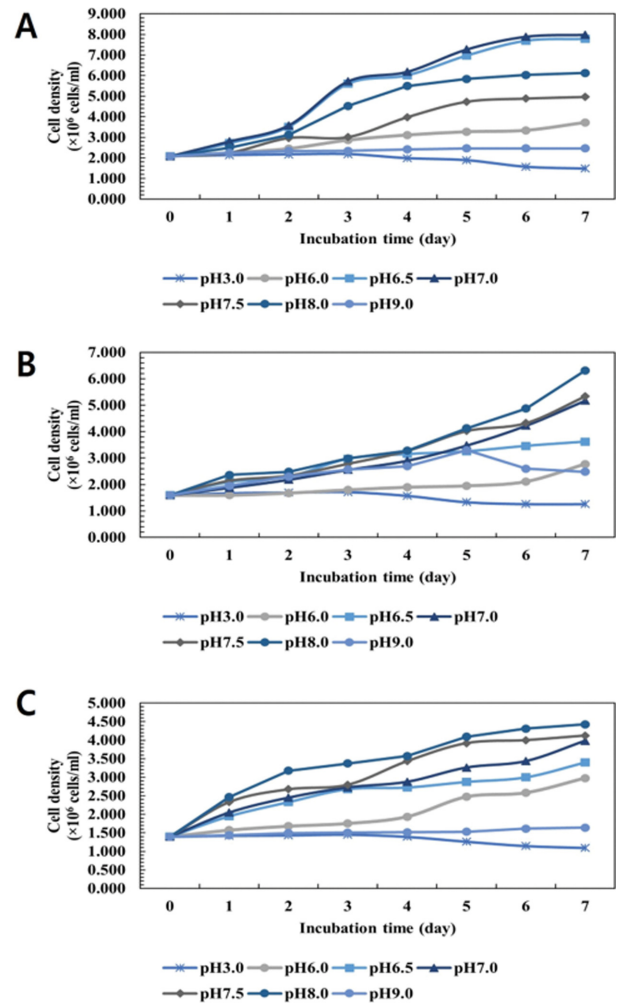


Fig. 2. Effect of cultivation pH on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

에서 4.425×10^6 cells/mL으로 가장 높은 성장을 보였다.

초기 접종량에 따른 성장 비교

초기 접종량에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다(Fig. 3). *C. vulgaris*의 경우 배양 결과 접종량이 증가함에 따라 성장 또한 증가하는 것으로 나타났다. 10% 접종 시 6.484×10^6 cells/mL, 20% 접종 시 7.381×10^6 cells/mL, 30% 접종 시 8.684×10^6 cells/mL, 50% 접종 시 9.246×10^6 cells/mL, 70% 접종 시 11.584×10^6 cells/mL으로 나타났다. 그러나 10%를 접종한 경우와 70%를 접종한 경우를 비교하였을 때 접종량은 7배 차이 나는 것에 비해 성장률은 각각 6.484×10^6 cells/mL와 11.584×10^6 cells/mL으로 효율은 낮음을 보였다. 이는 미세조류 배양 초기 접종량이 미세조류의 성장에 영향을 미치지 않지만 일정 농도 이상의 접종량은 오히려 세포 밀도에 방해가 되는 것으로 보인다. 특히 30%를 접종한 경우와 50%를 접종한 경우는 성장에 차이가 거의 나타나지 않았다. *D. salina*의

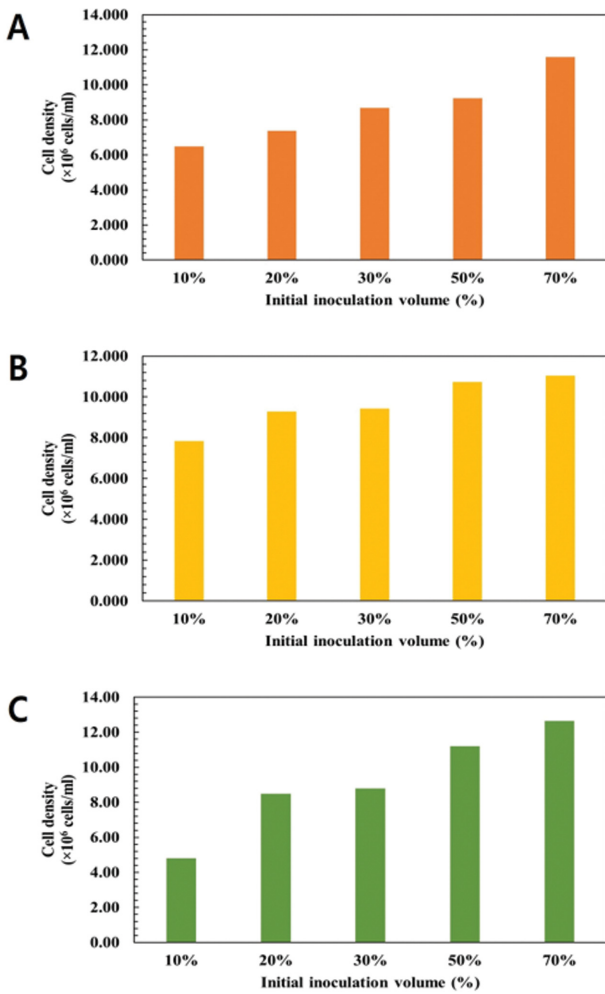


Fig. 3. Effect of initial inoculum ratio on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

경우 *C. vulgaris*와 마찬가지로 접종량이 증가함에 따라 성장 또한 증가하는 것으로 나타났다. 10% 접종 시 7.841×10^6 cells/mL, 20% 접종 시 9.282×10^6 cells/mL, 30% 접종 시 9.434×10^6 cells/mL, 50% 접종 시 10.732×10^6 cells/mL, 70% 접종 시 11.041×10^6 cells/mL으로 나타났다. *S. obliquus*의 경우 *C. vulgaris*와 마찬가지로 접종량이 증가함에 따라 성장 또한 증가하는 것으로 나타났다. 10% 접종 시 4.80×10^6 cells/mL, 20% 접종 시 8.48×10^6 cells/mL, 30% 접종 시 8.80×10^6 cells/mL, 50% 접종 시 11.20×10^6 cells/mL, 70% 접종 시 12.64×10^6 cells/mL으로 나타났다.

교반에 따른 성장 비교

미세조류의 성장에 있어 적당한 혼합은 세포를 부유 상태로 유지시켜줘 성장에 좋은 영향을 미친다. 또한 용기의 교반으로 인해 광원 저해를 최소화할 수 있어 교반은 중요하다. 적당한 교반은 미세조류의 성장에 도움이 되지만 과도한 교반 속도는 세포에 스트레스를 주어 오히려 성장에

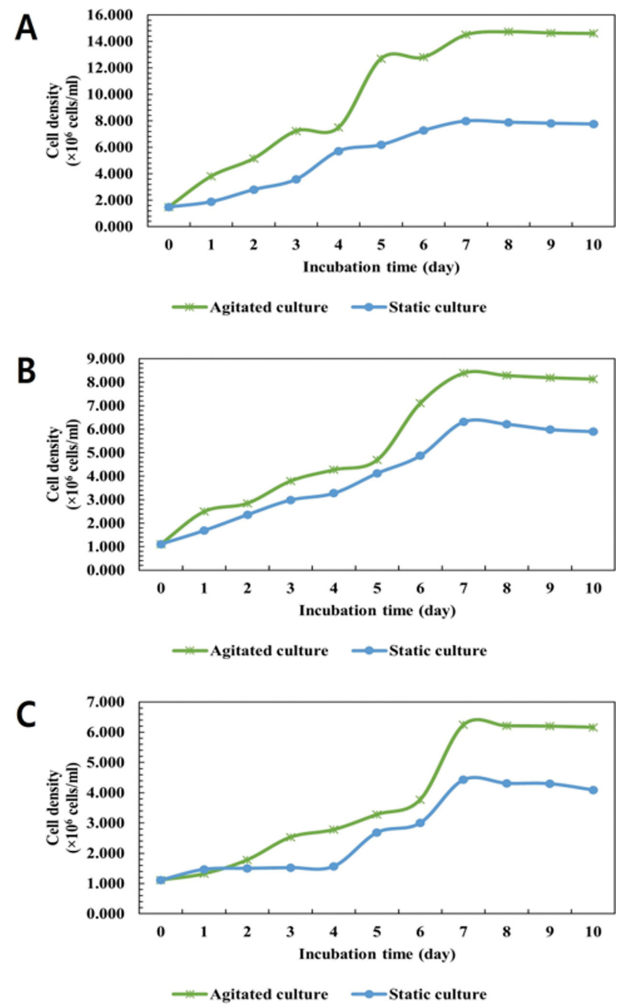


Fig. 4. Effect of agitation and static conditions on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

악영향을 미친다(Choi & Lee, 2012). 교반에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다 (Fig. 4). *C. vulgaris*의 경우 예상대로 적당한 교반은 미세조류의 성장에 도움을 주어 정치 배양에 비해 교반 배양이 높은 세포 밀도를 보였다. *D. salina*의 경우 교반 배양 시 14.593×10^6 cells/mL, 정지 배양 시 7.750×10^6 cells/mL으로 2배 가까운 차이를 보였다. *S. obliquus*의 경우 교반 배양 시 8.134×10^6 cells/mL, 정지 배양 시 5.899×10^6 cells/mL으로 나타났다. 교반에 따른 *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다. 교반 배양 시 6.162×10^6 cells/mL, 정지 배양 시 4.091×10^6 cells/mL으로 나타났다.

광도에 따른 성장 비교

본 연구에서는 광원 미제공, 1500, 3000, 4500, 6000 Lux 조건으로 변화하여 20일 동안 성장 양상을 실험하였다. 광도에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다(Fig. 5). 광도에 따른 *C. vulgaris*의 성장 결

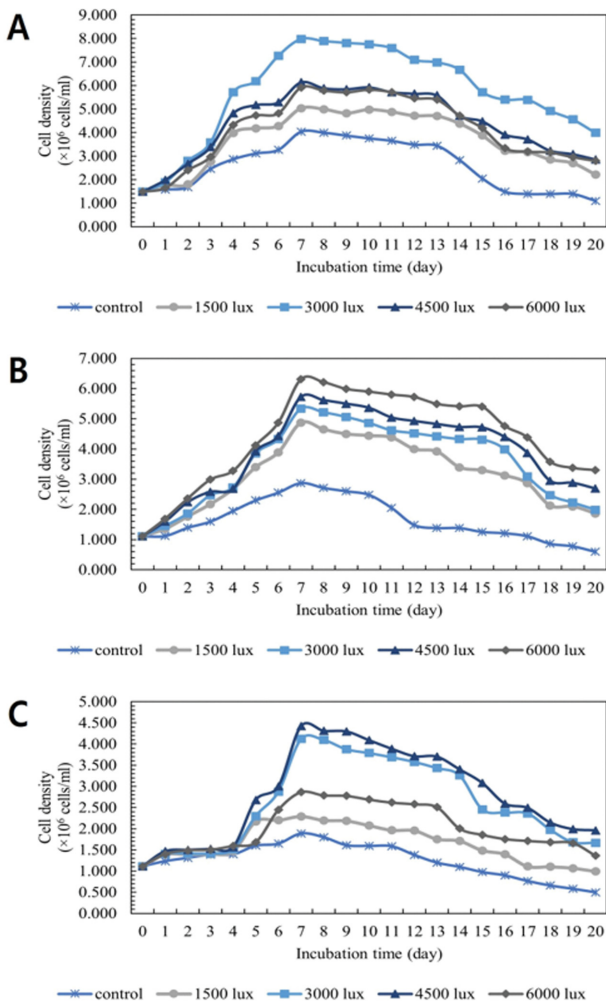


Fig. 5. Effect of light intensity on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

과, 3000 Lux, 4500 Lux, 6000 Lux, 1500 Lux, 광원 미제공 순으로 나타났다. 3000 Lux에서 3.987×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였으며, 광원을 주지 않은 무처리 조건에서는 빛이 제한되어 1.093×10^6 cells/mL로 낮은 세포 밀도를 보였다. 광도에 따른 *D. salina*의 성장 결과, 6000 Lux, 4500 Lux, 3000 Lux, 1500 Lux, 광원 미제공 순으로 나타났다. 6000 Lux에서 3.299×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였다. 광도에 따른 *S. obliquus*의 성장 결과, 4500 Lux, 3000 Lux, 6000 Lux, 1500 Lux, 광원 미제공 순으로 나타났다. 4500 Lux에서 1.961×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였다. *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus* 모두 광원을 제공하지 않은 경우 성장이 가장 저조함을 보였다.

광주기에 따른 성장 비교

Yoshimoto et al. (2005)에 따르면 미세조류 배양에서 광조사 간격이 광합성 효율을 더 증가시킨다. 광주기가 미세

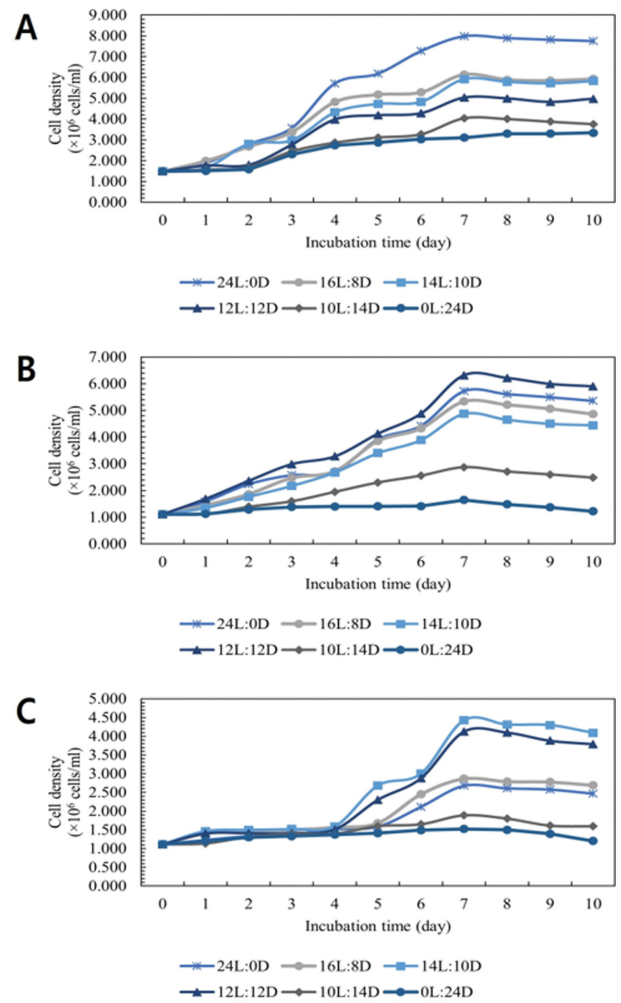


Fig. 6. Effect of light/dark cycle period on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

조류의 배양에 미치는 영향을 확인하기 위해 24L:0D, 16L:8D, 14L:10D, 12L:12D, 10L:14D, 0L:24D 조건으로 10일 동안 성장 양상을 비교하였다. 광주기에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다 (Fig. 6). *C. vulgaris*의 경우 24L:0D, 16L:8D, 14L:10D, 12L:12D, 10L:14D, 0L:24D 순으로 *C. vulgaris*의 성장에는 빛 제공이 중요함을 알 수 있다. 24L:0D에서 7.750×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였다. *D. salina*의 성장 결과, 12L:12D, 24L:0D, 16L:8D, 14L:10D, 10L:14D, 0L:24D 순으로 나타났으며 12L:12D에서 5.899×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였다. *S. obliquus*의 성장 결과, 14L:10D, 12L:12D, 16L:8D, 24L:0D, 10L:14D, 0L:24D 순으로 나타났었다. 14L:10D에서 4.091×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였다.

파장에 따른 성장 비교

본 연구에서는 파장에 따른 성장 속도를 비교하기 위해

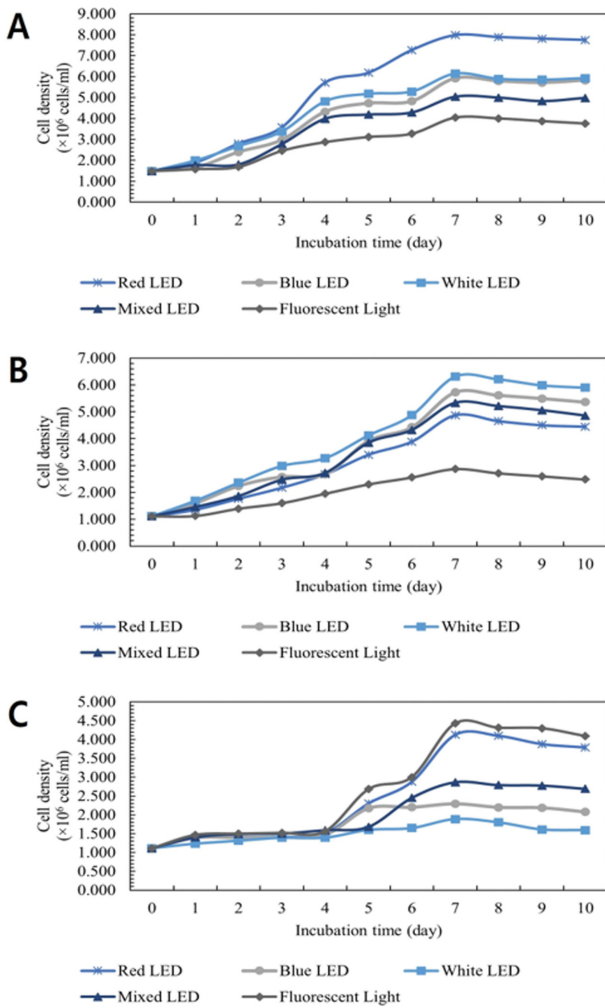


Fig. 7. Effect of light emitting diodes (LEDs) color and wavelengths on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

광원으로 red LED (660 nm), blue LED (450 nm), white LED, mixed LED (Red:Blue:White = 1:1:1), fluorescent light을 사용하였다. 파장에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다(Fig. 7). *C. vulgaris*의 경우 Red LED에서 7.750×10^6 cells/mL로 가장 높은 세포 밀도를 보였으며, white LED 5.923×10^6 cells/mL, blue LED 5.825×10^6 cells/mL, mixed LED 4.975×10^6 cells/mL, fluorescent light 3.755×10^6 cells/mL 순으로 성장이 감소하였다. *C. vulgaris*와 보색 관계인 red 색상의 빛이 *C. vulgaris*의 성장에 매우 중요하게 작용했을 것으로 판단된다. *D. salina*의 경우 White LED에서 5.899×10^6 cells/mL로 가장 높은 세포 밀도를 보였으며, blue LED 5.359×10^6 cells/mL, mixed LED 4.858×10^6 cells/mL, red LED 4.444×10^6 cells/mL, fluorescent light 2.481×10^6 cells/mL 순으로 성장이 감소하였다. 따라서 white LED가 *D. salina*의 배양에 가장 효과가 좋은 것으로 확인되었다. 이는 *D.*

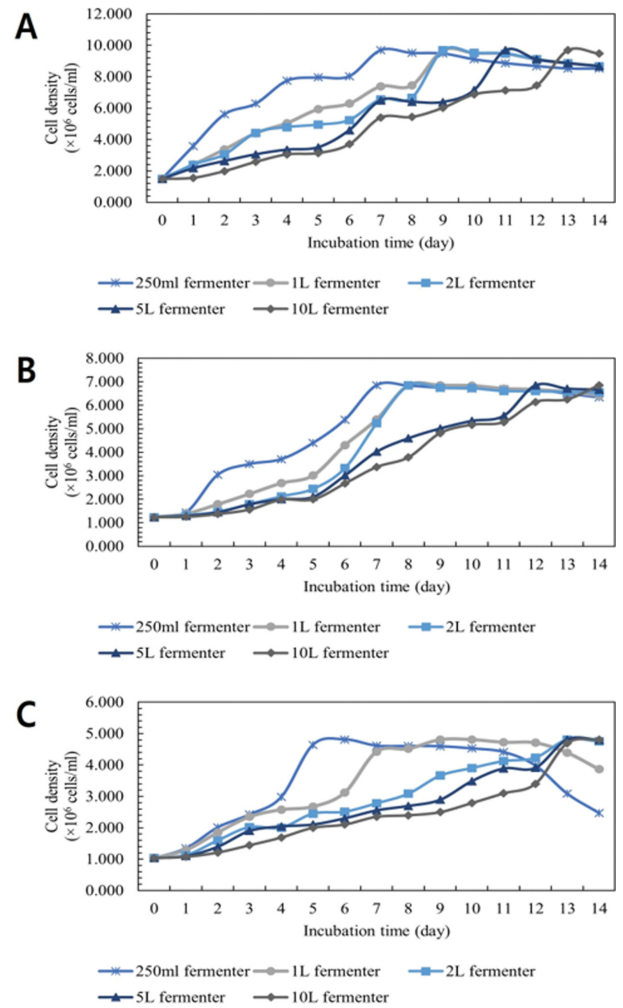


Fig. 8. Effect of cultivation fermenter sizes on the cell growth of microalgae: (A) *C. vulgaris*, (B) *D. salina*, (C) *S. obliquus*.

*salina*의 Chlorophyll-a (광합성을 할 때 필요한 빛을 흡수하는 색소)의 흡수 특성이 440 nm에서 높게 나타났다는 연구 결과와 일치한다(Barbieri et al., 2006). 파장에 따른 *S. obliquus*의 성장 비교 결과 fluorescent light에서 4.091×10^6 cells/mL로 가장 우수한 세포 밀도를 보였고, red LED 3.789×10^6 cells/mL, mixed LED 2.689×10^6 cells/mL, blue LED 2.076×10^6 cells/mL, white LED 1.593×10^6 cells/mL 순으로 나타났다.

배양 규모에 따른 성장 비교

배양 규모에 따른 *C. vulgaris*, *D. salina*, *S. obliquus*의 성장 결과를 나타내었다(Fig. 8). *C. vulgaris*의 경우 배양 용기의 규모가 작을수록 빠른 성장률을 보였으며 최대 세포 밀도를 보인 후 세포 밀도가 점차 낮아짐을 확인하였다. 250 ml 배양관은 배양 7일차에, 1 L와 2 L 배양관은 배양 9일차에, 5 L 배양관은 배양 11일차에, 10 L 배양관은 배양 13일차에 9.684×10^6 cells/mL로 최대 세포 밀

도를 보였다. *D. salina*의 경우 250 mL 배양관은 배양 7 일차에, 1 L와 2 L 배양관은 배양 8일차에, 5 L 배양관은 배양 12일차에, 10 L 배양관은 배양 14일차에 6.849×10^6 cells/mL으로 최대 세포 밀도를 보였다. *S. obliquus*의 성장 결과 250 mL 배양관은 배양 6일차에, 1 L 배양관은 배양 10일차에, 2 L, 5 L 배양관은 배양 13일차에, 10 L 배양관은 배양 14일차에 4.812×10^6 cells/mL으로 최대 세포 밀도를 보였다. 배양 규모에 따른 성장 속도의 차이는 배양 용기가 작을수록 고른 광량 확보가 가능했기 때문인 것으로 판단된다.

요 약

단백질은 사람이 생명을 유지하기 위해 필수적으로 필요한 3대 영양소 중 하나로 단백질 수요는 인구 증가와 함께 계속 증가할 것으로 보인다. 이에 따라 동물성 단백질을 대체하며 식량 생산 요구를 충족하기 위한 새로운 친환경적인 식량 공급원이 필요하다. 미세조류는 기존의 곡물 자원보다 광합성 효율이 높고 빠른 성장 속도와 짧은 세대시간을 가진다는 특징이 있으며 특히 단백질 함량이 높다. 식품 단백질 소재로서 미세조류의 사용이 확대되기 위해서는 생산성이 증대되어야 하며, 단백질 함량이 높은 미세조류를 대량으로 생산하기 위한 미세조류 배양 조건이 종합적으로 비교된 기초 연구가 필요하다. 본 연구에서는 미세조류 중에 따라 생산량 증대를 목적으로 배양 방법, 배양 온도, 배양 초기 pH, 교반 여부, 광도, 광주기, 파장, 초기 접종량, 배양 규모에 따른 조건을 다양화하여 배양 조건을 최적화하였다. 실험 결과, *C. vulgaris* (AG10032)는 혼합영양배양, 배양 온도 25°C, 배양 초기 pH 7.0, 초기 접종량 10%, 교반 배양, 광도 3000 Lux, 광주기 24L:0D, red LED가 최적 배양 조건으로 판단된다. *D. salina* (AG60854)는 혼합영양배양, 배양 온도 20°C, 배양 초기 pH 8.0, 초기 접종량 10%, 교반 배양, 광도 6000 Lux, 광주기 12L:12D, White LED였으며 *S. obliquus* (AG10047)는 혼합영양배양, 배양 온도 30°C, 배양 초기 pH 8.0, 초기 접종량 10%, 교반 배양, 광도 4500 Lux, 광주기 14L:10D, Fluorescent light, 배양규모 250 mL가 최적 배양 조건으로 조사되었다. 단백질 함량이 높은 것으로 잘 알려진 대표 미세조류 3종의 배양 조건을 종합적으로 비교하였다. 이러한 연구 결과는 미세조류의 단백질 대체 소재 활용을 위한 기초 정보로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 국립안동대학교 기본연구지원사업에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Abakoura B, Christophe B. 2016. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 20(3): 427-436.
- Allen MM. 1968. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae of plates(1, 2). *J. Phycol.* 4(1): 1-4.
- Asgar MA, Fazilah A, Huda N, Bhat R, Karim AA. 2010. Non-meat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9(5): 513-529.
- Barbieri ES, Villafañe VE, Helbling EW. 2006. Dynamics of oxygen production / consumption in *Dunaliella salina*, *Thalassiosira weissflogii* and *Heterocapsa triquetra* circulating within a simulated upper mixed layer. *Investigaciones Marinas.* 34(2): 97-108.
- Chew KW, Yap JY, Show PL, Suan NH, Juan JC, Ling TC, Lee DJ, Chang JS. 2017. Microalgae biorefinery: high value products perspectives. *Bioresour. Technol.* 229: 53-62.
- Cho SY, Ryu GH. 2022. Quality characteristics of plant-based proteins used in meat analogs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 51(4): 375-380.
- Choi BR, Kim DS, Lee TY. 2012. Optimum cultivation condition of *Dunaliella Salina*: effects of light emitting diode as a lighting source, temperature, light intensity and air flow rates. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* 34(9): 630-636.
- Choi BR, Kim DS, Lee TY. 2013. Effect of light-emitting diode wavelength, light intensity and air flow ration on optimal growth of *Pavlova lutheri* and *Phaeodactylum tricoratum*. *KSBB J.* 28(3): 170-176
- Choi BR, Lee TY. 2012. Cultivation of *Chlorella* sp. under different aeration conditions illuminated by light emitting diode. *KSBB J.* 27(4): 263-267.
- Choi HJ, Lee SM. 2011. Effect of temperature, light intensity and pH on the growth rate of *Chlorella vulgaris*. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* 33(7): 511-515.
- Fleurence J. 1999. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci Technol.* 10(1): 25-28.
- Godfray H CJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM, Toulmin C. 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science (New York, N.Y.)*. 327(5967): 812-818.
- Jeon SM, Kim IH, Ha JM, Lee JH. 2008. Overview of technology for fixation of carbon dioxide using microalgae. *Appl. Chem. Eng.* 19(2): 145-150.
- Jeong UC, Choi JK, Kang CM, Choi BD, Kang SJ. 2016. Effects of culture methods on the growth rates and fatty acid profiles of *Euglena gracilis*. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 49(1): 38-44.
- Jo BH, Cha HJ. 2010. Biodiesel production using microalgal marine biomass. *KSBB J.* 25(2): 109-115.
- Joo SJ, Hwang HJ, Zhang S, Hwang SJ. 2015. Effects of light condition in the continuous mass cultivation of microalgae *Scenedesmus dimorphus*. *J. Korean Soc. Water Wastewater.* 29: 319-323.
- Kang MH, Park JH, Park HY, Kim SH, Kim JW. 2023. Optimization of extraction conditions to enhance production of bioactive compounds from microalgae. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 56(1): 28-32.

- Kim KH, Kang SM, Cho YH, Jeon SH, Kim JH, Park HW, Lee YW, Jeong JH, Lim SM, Lee CG. 2018. Development of improving water quality in eutrophic lake using microalgal cultivation. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* 10(2): 91-96.
- Kumar R, Hegde AS, Sharma K, Parmar P, Srivatsan V. 2022. Microalgae as a sustainable source of edible proteins and bioactive peptides - current trends and future prospects. *Food Res. Int.* 157: 111338.
- Lee JY, Oh YS, Lee HS, Oh SJ. 1999. Feed nutritive value of microalgae *Chlorella* spp. grown on waste CO₂ as a broiler diet supplement. *Ann. Anim. Resour. Sci.* 10: 26-33.
- Miao X, Wu Q. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour. Technol.* 97(6): 841-846.
- Park HW, Kang SM, Min JH, Kim JH, Cho YH, Kim KH, Jin ES, Hong SJ, Lee CG. 2020. A study on the effect of initial cell density on biomass productivity of a microalga *Chlamydomonas reinhardtii* dZL in large-scale cultivation using 100 L flat-panel photobioreactors. *KSBB J.* 35: 78-83.
- Park JS, Hwang IS, Oh EJ, Yoo J, Chung KY. 2019. Behavior of nutrients and heavy metals (Cu, Zn) and applicability evaluation from swine wastewater treatment using microalga *Scenedesmus obliquus*. *Appl. Chem. Eng.* 30(2): 226-232.
- Park SK. 2021. Current status of technologies for producing protein alternative foods. *Food Sci. Anim. Resour.* 10(1): 4-15.
- Pulz O, Gross W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65(6): 635-648.
- Ryther JH, Guillard RRL. 1962. Studies of marine planktonic diatoms: Iii. some effects of temperature on respiration of five species. *Can. J. Microbiol.* 8(4): 447-453.
- Schenk PM, Thomas-Hall SR, Stephens E, Marx UC, Mussgnug JH, Posten C, Kruse O, Hankamer B. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Res.* 1(1): 20-43.
- Shin DW, Bae JH, Cho YH, Ryu YJ, Kim ZH, Lim SM, Lee CG. 2016. Isolation of new microalga, *Tetraselmis* sp. KCTC12236BP, and biodiesel production using its biomass. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* 8(1): 39-44.
- Sousa I, Gouveia L, Batista AP, Raymundo A, Bandarra N. 2008. Microalgae in novel food products. *Algae: nutrition, pollution control and energy sources. Food Chem. Res. Dev.* 75-112.
- Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108(50): 20260-20264.
- Yoshimoto N, Sato T, Kondo Y. 2005. Dynamic discrete model of flashing light effect in photosynthesis of microalgae. *J. Appl. Phycol.* 17(3): 207-214.

Author Information

오혜원: 국립안동대학교 식품생명공학과 대학원생(박사과정)

이승환: 국립안동대학교 식품생명공학과 교수