



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0098014
(43) 공개일자 2017년08월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/12 (2006.01) C12N 1/36 (2006.01)

C12P 7/64 (2006.01) C12R 1/89 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/12 (2013.01)

C12N 1/36 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0019860

(22) 출원일자 2016년02월19일

심사청구일자 2016년02월19일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)

(72) 발명자

이철균

서울특별시 서초구 신반포로 270, 104동 801호 (반포동, 반포자이아파트)

박한울

인천광역시 남구 인주대로252번길 25, 204호 (용현동, 관후주택)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

한윤호

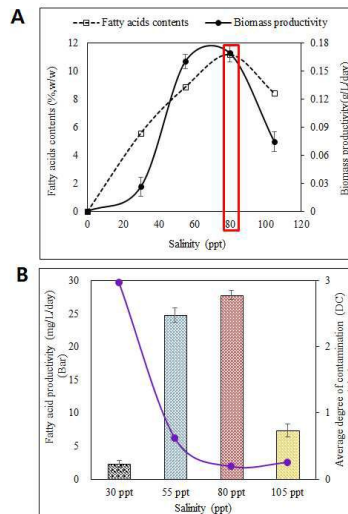
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법

(57) 요약

본 발명은 배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 및 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 고염도 배지 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12P 7/64 (2013.01)

C12R 1/89 (2013.01)

(72) 발명자

임상민

인천광역시 부평구 부흥로 246, 21동 1103호 (부평동, 동아2단지아파트)

정대우

경상남도 통영시 발개로 105, 3층 (봉평동)

이종찬

서울특별시 영등포구 여의동로3길 10, 401동 2102호 (여의도동, 여의도자이아파트)

김필한

서울특별시 강서구 양천로 507, 103동 2002호 (가양동, 강나루현대아파트)

정인재

인천광역시 서구 가정로 136, D동 209호 (가좌동, 삼영아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 D10917015H480000110

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양바이오에너지생산기술개발사업

연구과제명 해양미세조류 이용 바이오디젤 생산기술 개발

기 여 율 1/2

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2015.06.01 ~ 2016.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 D11420015H480000110

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양에너지특성화대학원 지원사업

연구과제명 해양에너지 융복합 인력양성

기 여 율 1/2

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2015.09.01 ~ 2016.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 및

상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 고염도 배지 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 2

배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계; 및

상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 내염성 광합성 미생물은 테트라셀미스 속 미세조류인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 테트라셀미스 속 미세조류는 수탁번호 KCTC12432BP로 기탁된 *Tetraselmis* sp. MBEyh04Gc인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 고염도 배지의 염도는 50 내지 100 ppt인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 미세조류의 배양방법.

청구항 6

배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계;

상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 1차 배양단계; 및

상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 옮겨서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 미세조류의 배양방법.

청구항 7

배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계;

상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 1차 배양단계; 및

상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서,

상기 내염성 광합성 미생물은 테트라셀미스 속 미세조류인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 테트라셀미스 속 미세조류는 수탁번호 KCTC12432BP로 기탁된 *Tetraselmis* sp. MBEyh04Gc인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 10

제6항 또는 제7항에 있어서,

상기 2차 배양단계는 1차 배양단계 이후 상기 광합성 미생물을 수확한 후, 일반 염도 배지로 옮겨서 수행되거나, 상기 1차 배양단계가 끝난 배양기 내에 NaCl이 결핍된 배지를 첨가하여 염도를 일반 염도로 조절한 후 배양함으로써 수행되는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

청구항 11

제6항 또는 제7항에 있어서,

상기 고염도 배지의 염도는 50 내지 100 ppt이고 일반 염도 배지의 염도는 20 내지 40 ppt인, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 광합성 미생물의 배양방법에 관한 것으로, 더 상세하게는 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전 세계적으로 인구의 증가로 인한 에너지 사용량의 증가로 석유 매장량은 줄어드는 반면, 대체 에너지 자원의 개발이 대두되고 있다. 특히, 선박, 비행기 등에 사용할 수송용 에너지를 대체할 수 있고 현재 사용하고 있는 모든 인프라를 사용하기 위해 바이오디젤(bio-diesel)이 각광받고 있다. 바이오디젤은 바이오매스로부터 에스터 교환(trans esterification) 공정을 통해 생성되는 FAME(fatty acid methyl ester)을 말하는데 대두유나 팜유와 같은 식물성 기름과 돈지, 우지와 같은 동물성 지방 그리고 조류 등이 바이오디젤 생산의 공급 원료로 사용되고 있고 특히, 미세조류는 성장성이 빠르고 지질 함량이 많은 장점이 있어 기존의 바이오디젤의 공급 원료였던 콩이나 팜유와 같은 육상식물의 대체 원료로 각광 받고 있다. 미세조류가 생산하는 바이오디젤의 지방산들의 구성은 화석연료의 지방산들과 유사한 경우가 많고 세탄가, 점도 및 밀도와 같은 화석연료의 물성과 유사하여 기존의 내연기관의 인프라의 변경 없이도 적용이 가능한 장점을 지니고 있다. 그러나 상용화를 위한 미세조류를 대량생산하기 위해서는 대량의 담수, 영양분, 온도 유지 장치 등을 필요로 하는 등 높은 유지 및 운영경비가 발생하고 담수 사용량을 줄이기 위해 해수를 사용하면 합리적인 생산 가격을 달성할 수는 있으나 해수에 포함되는 박테리아, 동물성 플랑크톤 등 수많은 생물학적 오염물질들로 인해 생산효율이 감소하기도 한다.

[0003] 이와 관련하여 대한민국 공개특허 제2014-0121130호는 광합성 미생물 대량배양을 위한 광생물 반응기를 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 그러나, 상기 선행기술의 경우, 해수를 그대로 사용하기 때문에 해수에 포함되어 있는 생물학적 오염물질로 생산효율이 낮고 높은 생산비용이 발생하며 대량 배양 시스템에는 적합하지 않다.

[0005] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 포함하여 여러 문제점들을 해결하기 위한 것으로서, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 미세조류의 배양방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러나 이러한 과제는 예시적인 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명의 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 및 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 고염도 배지 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

[0007] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계; 및 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

[0008] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 1차 배양단계; 및 상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 옮겨서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 미세조류의 배양방법이 제공된다.

[0009] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계; 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 1차 배양단계; 및 상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

발명의 효과

[0010] 상기한 바와 같이 이루어진 본 발명의 일 실시예에 따르면, 천연 바닷물을 이용하는 배양 과정에서 나타나는 오염 현상을 개선시키고 지질 생산성을 증가시킬 수 있는 미세조류 배양효과를 구현할 수 있다. 물론 이러한 효과에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 미세조류 배양 시 염도 변화에 따른 바이오매스 생산성 및 지방산 함량(A)과 지방산 생산성과 오염도(B)를 나타내는 그래프이다.

도 2는 고염도 배지 제조시 자연 해수에 염화나트륨을 첨가하거나 일반 염도의 해수를 증발시켜 염도를 조정된 배지에 배양한 미세조류의 지방산 생산성을 비교한 그래프이다. ■는 고염도 배지에서 배양한 결과이고 □는 추가로 질소원(NO_3^-) 결핍 스트레스를 준 결과이다.

도 3은 미세조류 배양을 위한 배양기의 종류를 나타낸 사진으로 TM-PBRs(A), FC-PBRs(B) 및 Floating Ponds(C)의 구조 및 형태를 나타내는 사진이다.

도 4는 도 3의 여러 종류의 배양기를 이용하여 고염배지에서 미세조류를 배양하였을 때 미세조류의 지방산 생산성(A)과 오염도(B)를 나타내는 그래프이다.

도 5는 미세조류 배양 시 질소원(NO_3^-) 결핍 스트레스에 따른 미세조류의 지방산 함량의 변화를 나타낸 그래프이고(A) 질소원(NO_3^-) 결핍과 염도 변화의 복합적 스트레스에 따른 지방산 함량의 변화(B)를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] **용어의 정의:**

[0013] 본 문서에서 사용되는 용어 "바이오매스(biomass)"는 에너지원으로 사용되기 위해서 사용되는 식물이나 동물 같은 생물체. 생물체에서 얻어지는 에너지원으로 사용할 수 있는 메탄가스나 에탄올 등을 바이오매스 에너지라고 부르고 바이오매스 에너지의 에너지원으로 사용되는 것을 바이오매스라고 한다. 최근에는 해양의 미세조류 대량 배양을 통한 바이오매스 생산이 주목받고 있다.

[0014] 본 문서에서 사용되는 용어 "바이오디젤(bio-diesel)"은 콩기름 등의 식물성 기름을 원료로 해서 만든 바이오연료로 바이오에탄올과 함께 가장 널리 사용된다. 보통 메탄올을 이용해 3가의 지방산에 글리세롤이 결합한 트라이글리세리드로부터 글리세롤을 분리한 다음, 지방산에스터를 만들어 내는 에스테르 교환방법을 통하여 만든다. 최근 들어 미세조류는 성장성이 빠르고 지질 함량이 많은 장점이 있어 기존의 바이오디젤의 공급 원료였던 콩이나 팜유와 같은 육상식물의 대체 원료로 각광 받고 있다.

[0015] 본 문서에서 사용되는 용어 "미세조류(microalgae)"는 바다에 서식하는 식물성 플랑크톤으로, 흔히 적조를 일으키는 코클로디니움 같은 플랑크톤 역시 미세조류에 속한다. 해양 바이오에너지 연구가 주목하는 미세조류는 특히 지질, 즉 기름 성분이 풍부한 미세조류 종(種)이다. 크기는 10 μ m(미크론, 1m의 100만분의 1)정도, 머리카락 굵기의 10분의 1 안팎이다.

[0016] 본 문서에서 사용되는 용어 "광합성 미생물"은 광합성을 할 수 있는 녹조류, 홍조류, 남조류를 의미하며, 예를 들어, 클로렐라, 클라디도모나스(*Chlamydomonas*), 해마토코커스(*Haematococcus*), 보트리오 코커스(*Botryococcus*), 세네데스무스(*Scenedesmus*), 스피룰리나(*Spirulina*), 테트라셀미스(*Tetraselmis*), 두날리엘라(*Dunaliella*) 등 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이때 상술한 미세조류는 배양용기 내에서 카로테노이드, 균체, 파이크빌리프로테인, 지질, 탄수화물, 불포화지방산, 단백질을 생산할 수 있다.

[0017] 본 문서에서 사용되는 용어 "환경수(environmental water)" 발명의 광생물 반응기가 투입되어 배양이 수행되는 공간의 물을 의미하며, 해수, 담수 및 기수를 포함하고, 인공적으로 조성한 저수조 또는 연못의 물도 포함될 수 있다.

[0018] **발명의 상세한 설명:**

[0019] 본 발명의 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 및 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 고염도 배지 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

[0020] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계; 및 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

[0021] 상기 광합성 미생물의 배양방법에 있어서, 상기 내염성 광합성 미생물은 테트라셀미스 속 미세조류일 수 있고 상기 테트라셀미스 속 미세조류는 수탁번호 KCTC12432BP로 기탁된 *Tetraselmis* sp. MBEyh04Gc일 수 있으며 상기 고염도 배지의 염도는 50 내지 100 ppt일 수 있다.

[0022] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물이 포함된 자연 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수를 증발시켜 고염도 배지를 제조하는 고염도 배지 제조단계; 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지에서 배양하는 1차 배양단계; 및 상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 옮겨서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 미세조류의 배양방법이 제공된다.

[0023] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 배양 대상 내염성 광합성 미생물을 자연 해수 또는 인공 해수에 염화나트륨 또는 천일염을 첨가하거나 상기 자연 해수 또는 인공 해수를 증발시켜 제조된 고염도 배지에 접종하는 미생물 접종단계; 상기 광합성 미생물을 상기 고염도 배지 내에서 배양하는 1차 배양단계; 및 상기 광합성 미생물을 일반 염도 배지에서 배양하는 2차 배양단계를 포함하는, 오염 방지 및 지질 생산성을 증가시키는 광합성 미생물의 배양방법이 제공된다.

[0024] 상기 광합성 미생물의 배양방법에 있어서, 상기 내염성 광합성 미생물은 테트라셀미스 속 미세조류일 수 있고 상기 테트라셀미스 속 미세조류는 수탁번호 KCTC12432BP로 기탁된 *Tetraselmis* sp. MBEyh04Gc일 수 있다.

- [0025] 상기 광합성 미생물의 배양방법에 있어서, 상기 2차 배양단계는 1차 배양단계 이후 상기 광합성 미생물을 수확한 후, 일반 염도 배지로 옮겨서 수행되거나, 상기 1차 배양단계가 끝난 배양기 내에 NaCl이 결핍된 배지를 첨가하여 염도를 일반 염도로 조절한 후 배양함으로써 수행될 수 있고 상기 고염도 배지의 염도는 50 내지 100 ppt이고 일반 염도 배지의 염도는 20 내지 40 ppt일 수 있다.
- [0026] 본 발명자들은 삼면이 바다로 둘러싸여 있는 우리나라의 지리적 특성을 이용하여 바이오디젤 생산 시 요구되는 담수사용량을 해수로 대체하면 담수 사용량이 대폭 감소되어 합리적인 생산가격을 달성할 수 있어 경제적인 비용의 한계를 극복할 수 있으나 배양에 사용되는 해수에는 박테리아, 기존 미세조류 및 동물성 플랑크톤 등 수많은 생물학적 오염물질들이 포함되어 있어 미세조류의 생장을 파괴하고 성장을 방해하여 생산효율이 감소하는 문제점을 인식하였다. 따라서, 미세조류 배양 시 해수에 포함되어 있는 생물학적 오염물질을 제거하는 것이 관건인데 종래의 여과법, 음파처리법, 항생제 처리법 및 대량집중법들은 높은 유지 및 운영 경비를 필요로 하여 큰 규모의 바이오매스 생산에는 적합하지 않으므로 이를 해결하고자 예의노력한 결과, 간단하면서도 저렴한 방법으로 해수의 오염을 방지함과 동시에 지방산의 함유량을 증가하는 광합성 미생물의 배양방법을 개발하였다.
- [0027] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하의 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다.
- [0028] **실시예 1: 염도 변화에 따른 미세조류 생산성과 지방산 함량**
- [0029] 본 발명의 일 실시예에 따라 해수의 염도변화에 따른 미세조류의 생산성, 지방산 함량 및 오염도를 분석을 수행하였다.
- [0030] 구체적으로, 지방산을 다량 함유하고 있는 광합성 미생물인 *Tetraselmis sp.* MBEyh04Gc의 효율적인 배양을 위해 배지 400 mL를 버블 컬럼 광생물반응기에 수용하고 염도(salinity)가 0인 증류수, 30 ppt인 자연 해수, 상기 자연 해수에 염화나트륨(NaCl)을 25, 50, 75 g/L을 각각 첨가하여 모든 염도의 종류가 0, 30, 55, 80 및 105 ppt인 배지를 제조하였다. 그 후, 상기 염도 0인 배지에서는 즉시 사멸하여 배양 2일째에 중단하였고, 염도 30, 55 및 80 ppt 배지는 8일간 배양, 염도 105 ppt인 배지에서는 11일간 배양을 수행하였다. 상기 배양액의 오염도(degree of contamination = 비 미세조류 입자 농도 / 미세조류 농도), 광합성 미생물의 지방산 함량 및 바이오매스 생산성을 측정하였다.
- [0031] 그 결과, 배양액의 염도가 약 80 ppt일 때 가장 높은 미세조류의 지방산 생산성을 나타내었고 가장 낮은 오염도를 나타내었다. 이는 배양액의 염도가 높아져서 해수 내의 생물오염이 감소됨에 따라 오염도가 감소하여 바이오매스 생산성이 증가하였고, 높은 염도에서의 삼투압에 대응하기 위해 세포의 지방산 함량이 증가했기 때문이다. 그러나 상기 80 ppt 보다 높은 염도에서는 오염 방지 효과보다 미세조류에 대한 생리적인 스트레스가 더 높아져 바이오매스 생산성과 지방산 함량이 감소하고 결과적으로 지방산의 생산성이 더 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 미세조류의 배양 시 약 80 ppt 염도에서 배양하는 것이 지방산 생산성을 높일 수 있는 최적의 염도인 것으로 사료된다(도 1).
- [0032] **실시예 2: 염도 조절 방법에 따른 미세조류 생산성 비교**
- [0033] 본 발명의 일 실시예에 따라 고염도 배지 제조시 염도 조절 방법을 달리하여 미세조류를 배양하고 지방산 생산성을 비교하였다. 먼저, 버블 컬럼 광생물반응기에 염화나트륨 50 g/L를 첨가하여 염도를 80 ppt로 조정된 고염도 배지 400 mL 및 일반 염도의 해수를 증발시켜 염도 80 ppt로 농축한 농축 해수 400 mL를 각각 넣은 후 *Tetraselmis sp.* MBEyh04Gc를 접종한 후 5일간 배양하였고 추가로 3일간 질소원(NO_3^-) 결핍 스트레스를 주고 이에 따른 미세조류의 지방산 생산성을 관찰하였다.
- [0034] 그 결과, 염화나트륨을 첨가하여 염도를 조절한 배지와 일반 염도의 해수를 증발시켜 염도를 조절한 농축 해수에서 배양한 미세조류의 지방산 생산성에는 차이가 나타나지 않았고, 추가로 3일간 질소원(NO_3^-) 결핍 스트레스를 준 결과도 마찬가지로 서로 차이가 없는 지방산 생산성을 나타내었다(도 2).
- [0035] **실시예 3: 배양기 종류에 따른 미세조류 생산성과 오염도**
- [0036] 본 발명의 일 실시예에 따라 배양기 종류에 따른 미세조류의 생산성 및 오염도를 분석을 수행하였다.
- [0037] 구체적으로, 실험에 사용된 배양기는 미세조류의 해양배양에 사용되는 것으로 긴 튜브형인 TM-PBR 배양기(도

3A), 내부 유출입 장치가 구비된 FC-PBR 배양기(도 3B) 및 개방형인 Floating Pond 배양기(도 3C)를 사용하였고, 인천광역시 옹진군 영흥면 영흥화력발전본부 연안에 설치된 2500 m²(50 m X 50 m)면적의 폰툰으로 조성된 해양실증배양장에서 실험을 수행하였다. 배지는 염도가 30 ppt인 자연 해수와 상기 자연 해수에 염화나트륨(NaCl) 50 g/L를 첨가하여 제조한 고염 배지를 사용하였다. 각각 50 L, 15 L, 2500 L의 배지를 상기 TM-PBR, FC-PBR 및 Floating Pond에 수용하여 미세조류 배양 실험을 수행하였다.

[0038] 그 결과, 배양기의 종류와 상관없이, 미세조류를 80 ppt의 고염배지를 이용하여 배양하였을 때(TM-UH, FC-EH, SB-TH) 미세조류의 생산성이 30 ppt의 자연 해수 기반 배지를 이용하였을 때 보다 생산성은 향상되고 오염도는 감소하였다. 따라서, 배양기의 크기, 모양, 개폐여부 등에 상관없이 80 ppt의 고염배지를 이용하여 미세조류를 배양하는 것이 생물학적 오염을 방지하고 지방산 생산성을 향상시킬 수 있음을 확인하였다(도 4).

[0039] **실시예 4: 스트레스에 따른 미세조류 지방산 함량과 지방산 생산성**

[0040] 본 발명의 일 실시예에 따라 염도 변화 스트레스에 따른 미세조류의 지방산 함량 및 지방산 생산성 분석을 수행하였다.

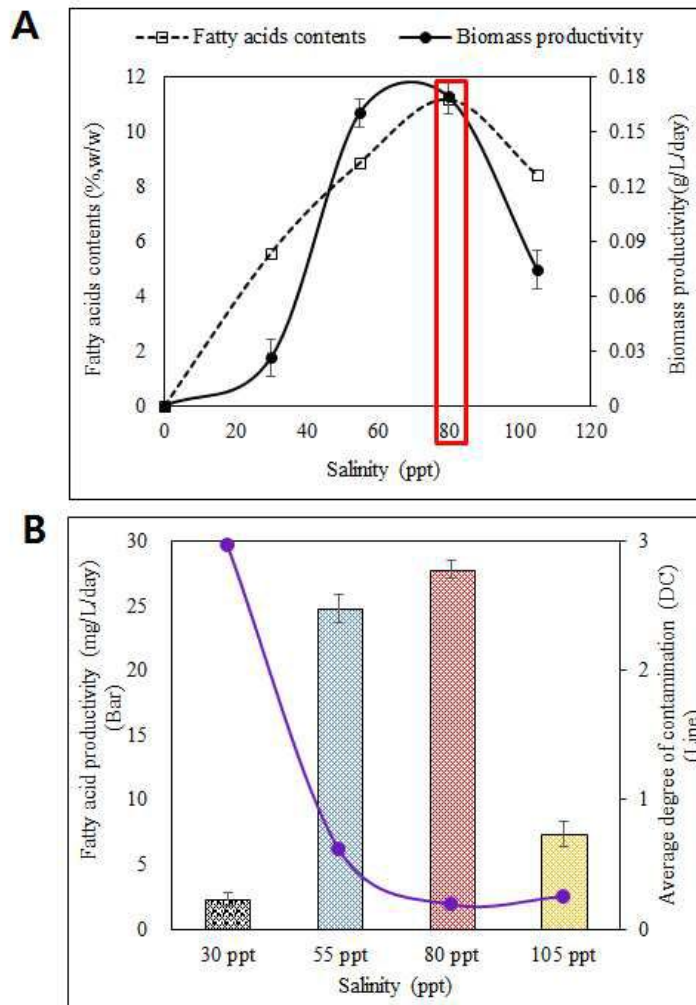
[0041] 구체적으로, 일반적으로 미세조류 배양에서 지방산 축적을 유도하기 위해 질소 결핍 스트레스를 주게 되는데 이를 위하여 미세조류를 고염배지(80 ppt)에서 1차 배양하였고 배지 내의 질소가 모두 소모된 6일째에 미세조류를 수확하여 질소원을 제외하고 제조된 일반 염도배지(30 ppt)에서 3일간 2차 배양을 수행하였으며 염도의 변화 없이 계속 고염배지(80 ppt)에서 배양한 미세조류를 대조군으로 사용하였다.

[0042] 그 결과, 미세조류를 계속 고염배지(80 ppt)에서 배양했을 때와 비교하여 고염배지(80 ppt)에서 1차 배양 후 일반 염도배지(30 ppt)에서 2차 배양을 수행한 미세조류의 지방산 함량이 대폭 증가하였으며 총 지방산 생산성도 77% 더 증가한 것으로 나타났다(도 5).

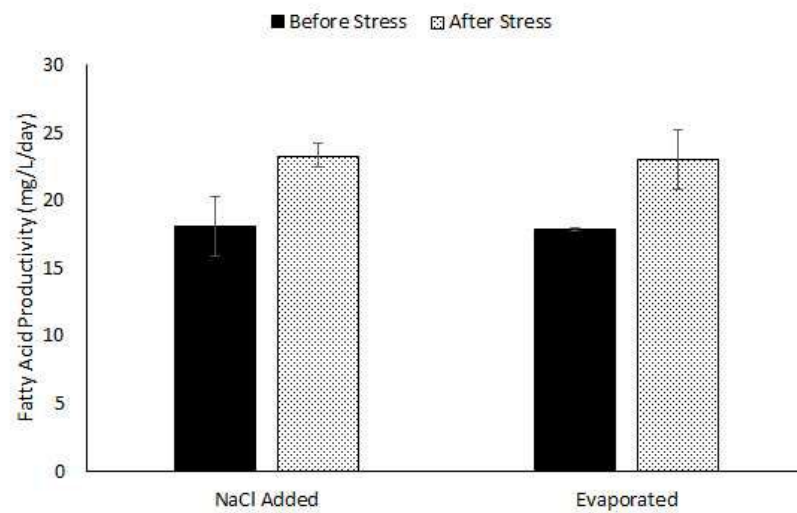
[0043] 본 발명은 상술한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

도면

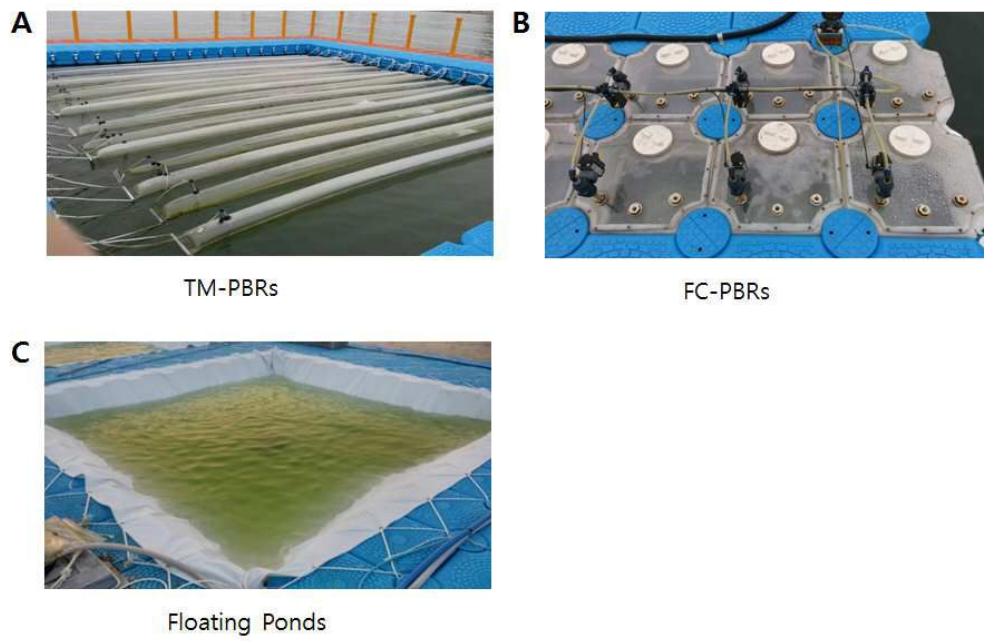
도면1



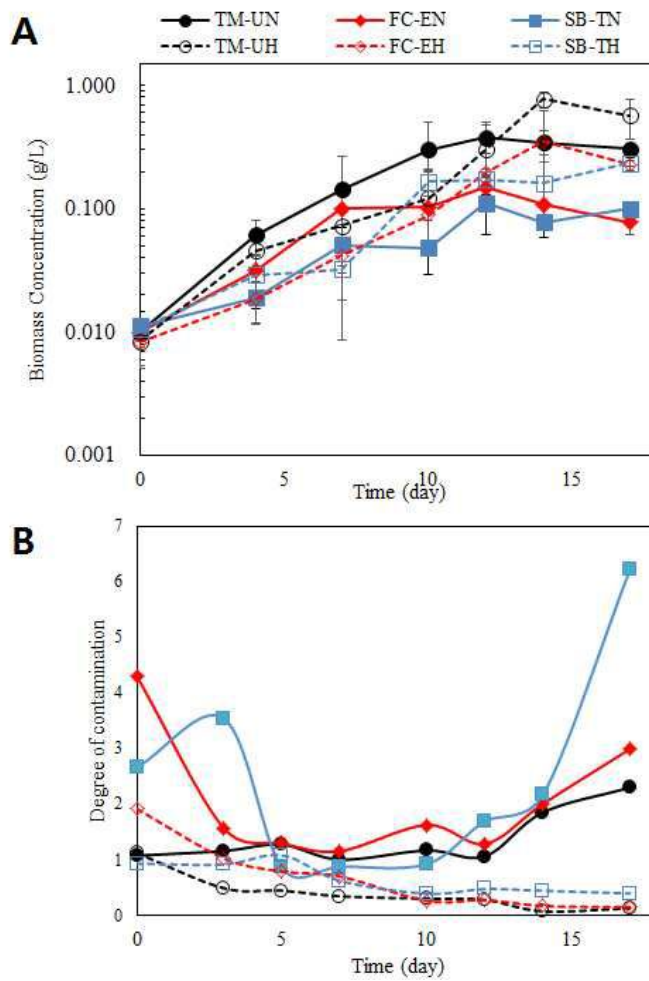
도면2



도면3



도면4



도면5

