

*Chlorella ellipsoidea*를 이용한 CO₂ 고정 및 미세조류 증식효과 검토

강 창 민 · 홍 순 강
초당대학교 환경공학과

The study on the CO₂ fixation and algae reproduction by microalgae *Chlorella ellipsoidea*

Chang-min Kang · Soon-Gang Hong
Dept. of Environmental Engineering, Chodang University

Abstract

The purpose of this study was conducted to indentified the fixing quality of CO₂, the most important greenhouse effect gas, by microalgae *Chlorella ellipsoidea* in batch test apparatus. The glass flask of 1.4 l culture media which was saturated with 99.99% pure CO₂ gas was setted water bath of 25°C, 5000Lux, and seeded 100ml algae liquid. We checked the change of inorganic carbon concentration and algae population with time in culture media.

The result were next: the growth of algae population relied on aquatic IC(inorganic carbon) concentration. And the pH was increased with decrease of IC concentration. The growth of algae population had positive correalation with CO₂ concentration, and the coefficient of correlation was 0.982. The specific growth rate(μ) of *Chlorella ellipsoidea* was 1.104/d, the maximum specific growth rate(μ_{max}) of 9.21/d, and helf velocity constant(K_s) of 259mg/l by Monod equation.

Key word : microalgae, CO₂ the greenhouse effect gas, μ_{max} , K_s

I. 서 론

오늘날 이산화탄소(CO₂), 메탄(CH₄), 프레온(Freon)가스 등에 의한 지구온난화 현상이 가속화 되고 있고 이런 상태가 지속된다면 다가오는 2030년대는 기온이 평균 2~3°C상승하리라 예상되고 있다¹⁾. 한편, 이러한 온난화원인가스의 발생자체를 원천적으로 억제시키거나 이미 발생된 가스를 효율적으로 재이용 또는 자원화하기 위한 다양한 연

구가 진행되고 있다. 재이용 및 자원화를 위한 방법으로는 물리적, 화학적 및 생물학적 방법이 검토되고 있다²⁾. 물리적으로는 발생가스를 수심 3000m 이상의 해저에 저장하는 방법과 유전중에 직접 투입하여 석유의 원료로써 이용하는 방법이 있다. 화학적으로는 인공광합성 또는 메타놀, 알콜 등의 유용한 물질로 전환시키는 방법이 있다. 그리고 생물학적으로는 산호, 석회조(石灰藻) 및 미세조류(microalgae)를 이용하여 고정하는 방법 등이 있다.

이때, CO₂는 미세조류에 의해 전분과 같은 유기물로, 산호 및 석회조에 의해 탄산칼슘과 같은 무기물로 각각 전환되므로 이들 생물체에 미치는 CO₂의 영향은 중요하다.

본 연구의 목적은 회분배양장치를 이용하여 미세조류의 CO₂고정 실험을 실시할 때, 성장제한인자 CO₂의 주입에 따른 배양액중의 화학성분(pH, 알칼리도, 전탄소, 무기탄소, 입자상탄소) 및 조류수 변화를 검토하는 것이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 배지 및 식중조류

1.1 배 지

본 실험에 이용한 배지³⁾는 무기탄소제한 배지로써, 그 조성을 <Table 1>에 나타내었다.

조성에 따라 작성된 배지는 고압증기멸균기에 넣어 121℃, 15분간 멸균했다.

1.2 식중조류

조류는 동경대학 응용미생물 보존센터로부터 분양된 *Chlorella ellipsoidea*를 이용했다.

Table 1. The culture media of *Chlorella ellipsoidea*

Chemical reagent	g/ l	Conc.(mol)
KNO ₃	1.25	1.24×10 ⁻²
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.25	5.0×10 ⁻³
KH ₂ PO ₄	1.25	9.2×10 ⁻³
FeSO ₄ solu.* ¹	1.0ml	
Arnon A ₅ solu.* ²	1.0ml	
Distilled water		
pH ; 5.8~6.0, temp. ; 24~25℃		
FeSO ₄ solution.* ¹	Arnon A ₅ solution.* ²	
FeSO ₄ · 7H ₂ O 2.8g	H ₃ PO ₄ 2.86g	
Distilled water 1000ml	MnCl ₂ · 4H ₂ O 1.81g	
Conc. H ₂ SO ₄ 1drop	ZnSO ₄ · 7H ₂ O 0.222g	
	CuSO ₄ · 5H ₂ O 0.079g	
	Na ₂ MoO ₄ 0.021g	
	Distilled water 1000ml	
	Conc. H ₂ SO ₄ 1drop	

1.3 조류현탁액

한천배지에서 보존한 조류를 멸균한 삼각플라스크에 무균적으로 접종하여, 0.03% CO₂ gas를 주입하면서 25℃, 5000Lux에서 연속배양하여 식중조류로 이용했다.

2. 실험장치

실험장치의 개략도를 <Fig.1>에 나타내었다. 장치는 크게 공기펌프, CO₂ tank, 가스혼합장치, 항온수조, 광원, 교반기, 배양플라스크로 구성되어있다. 가스혼합은 1차적으로 공기펌프 및 가스조절기에 의해 조절되고 2차적으로 가스혼합장치에 의해 미세하게 조정된다. 교반기는 조류증식에 따른 부착 및 침전을 방지하고 균일한 광조사를 확보하기 위한 것이며 동시에 주입된 가스를 배양액 전체에 균일하게 확산시킨다. 온도조절은 플라스크 하부에 설치된 가온교반기의 히터에 의해 조절했다. 광원은 할로겐 램프 또는 형광등을 이용했고 광량은 램프수 또는 조사거리를 조정하여 맞추었고, Timer를 이용해 조사시간을 조절했다. 이때 광량은 조도계(ANA55S, Murada Inc., Japan)를 사용하여 측정했다. 배양조는 2l 크기의 투명한 경질유리제 삼각플라스크를 이용했다.

3. 측정방법

시료는 배양장치의 시료채취구에서 유리제 실린더를 이용하여 1일 1회 30ml씩 채취하여 사용했다. pH는 pH meter를 이용했고, 알칼리도(Alkalinity)는 Standard method에 준하여 pH meter를 이용해 시료를 pH 4.3 종점까지 0.02N H₂SO₄로 적정하여 총알칼리도(Total alkalinity)를 계산했다. 총유기탄소(Total Organic Carbon, TOC), 전탄소(Total Carbon, TC) 및 무기탄소(Inorganic Carbon, IC)는 유기탄소분석기(TOC5000, Shimazu Co., Japan)를 이용하여 측정했다. 입자상유기탄소(Particle Organic Carbon, POC)는 총유기탄소로부터 액중의 용존유기탄소(Dissolved Organic Carbon, DOC)를 뺀 값으로 정의했다. 가스조성은 TCD-Gaschromatography(GC8A, Shimazu Co., Japan)로 측정했다. 설정조건은 Column: 활성탄, Carrier gas: Helium, Detector temp.:140℃이다. 조류 개체수(algae

population)는 광학현미경(배율×600, Nikon, Japan)을 이용하여 계수했다.

4. 실험방법

삼각플라스크 내에 액량 1.4ℓ의 배지를 넣은 후, 순도 99.99% CO₂ gas로 배양액을 포기하여 포화상태로 만든 후, pH를 7.0으로 조정했다. 여기에 미리 배양한 조류현탁액 100ml(6.4×10⁵ cells/ℓ)를 넣은 후, <Fig.1>의 진탕항온수조 내에 설치하여 온도 25℃, 광량 5000Lux에서 연속혼합배양 했다. 시료는 1일 간격으로 채취하여, 배양시간에 따른 주입 무기탄소의 농도 및 조류수 변화를 검토했다.

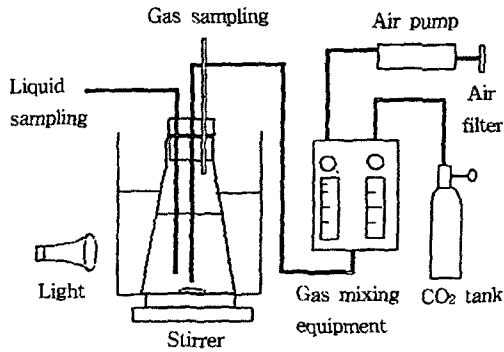


Fig. 1. The apparatus of experiment

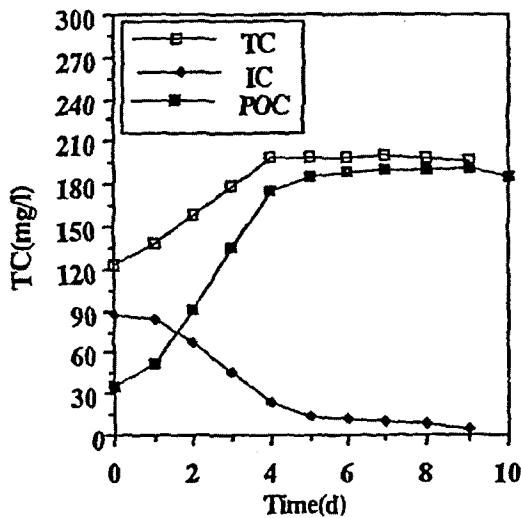


Fig. 2. The change of TC, POC and IC

III. 결과 및 고찰

1. 탄소형태 변화

<Fig.2>는 무기탄소, 입자상유기탄소⁴⁵⁾ 및 전탄소의 시간별 농도변화를 나타내고 있다. 각각의 초기농도는 88.3mg/ℓ, 34.8mg/ℓ 및 123.1mg/ℓ였다. 무기탄소는 5일째까지 빠르게 소모되어 농도가 15 mg/ℓ 까지 감소했으나, 그 후 감소속도는 느려져 완만한 감소곡선을 나타내었다. 9일째의 무기탄소 농도는 약 3mg/ℓ를 나타내어, 초기 주입된 무기탄소원인 CO₂가 거의 소비되었음을 알 수 있었다. 이 때 입자상유기탄소는 조류의 생체유기탄소를 의미한다. 입자상유기탄소는 무기탄소의 감소곡선과 정비례의 상승곡선을 나타내어 소비된 무기탄소가 조류생체물질로 효과적으로 전환됨을 나타내었다. 입자상 유기물질은 무기탄소 잔존농도가 감소하여 약 25mg/ℓ 이하를 나타낸 4일 이후부터 증가속도가 느려 거의 평형상태를 나타내었고, 이는 조류의 증식이 CO₂ 농도에 크게 영향을 받고 있음을 나타낸다. 전탄소는 무기탄소 및 입자상유기탄소 농도의 합을 나타내며, 4일 이후 거의 평형상태를 나타내고 있다.

<Fig.3>은 입자상유기탄소와 누적소비무기탄소의 변화를 나타내고 있다. 그래프로부터 입자상유

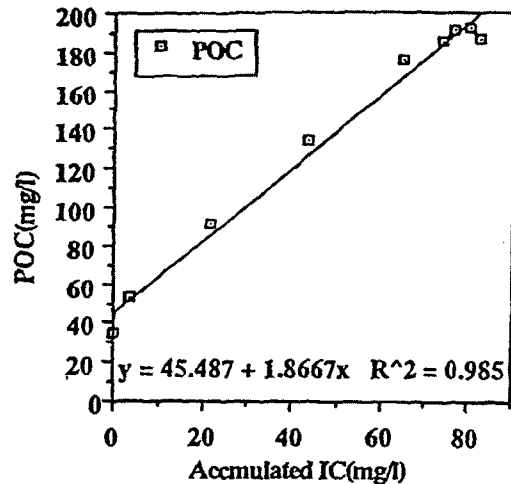


Fig. 3. The correlation of POC and accumulated IC

기탄소와 누적소비무기탄소 사이에는 0.985라는 높은 상관계수가 얻어졌다. 이것은 소비된 무기탄소의 대부분이 조류의 증식에 이용되었음을 의미한다. 또한 이 결과는 Brune 및 Novak⁶⁾에 의한 조류실험에서 총유기탄소와 누적소비무기탄소간에 높은 정의 상관성이 있다는 연구 결과치와 잘 일치하고 있다.

<Fig.4>는 무기탄소와 조류 개체수의 시간변화^{7,8)}를 나타내고 있다. 무기탄소는 조류의 성장에 이용되어 농도가 감소해 가는 반면, 조류개체수는 반대로 점점 증가했다. 이 결과로부터 조류성장은 무기탄소농도에 크게 영향을 받는 것을 알 수 있다. 만일 기질중의 무기탄소농도가 충분히 지속적으로 공급된다면, 조류성장곡선은 4일 이후에도 직선적으로 증가하여, 최대비증식속도(μ_{max})는 보다 높은 값을 나타내며 평형을 이룰 것이다. 9일째부터는 성장곡선이 감소하는 경향을 나타내고있으나, 이는 무기탄소의 고갈로 인해 미생물의 내생호흡과 자산화에 기인하기 때문일 것이다.

2. pH 및 알칼리도 변화

<Fig.5>은 pH의 시간변화^{10,11)}를 나타내고 있다. 실험초기부터 pH 6.51에서 4일째의 pH 8.10까지 급격히 증가했으나, 그후 완만하게 증가했다. pH는

초기에 무기탄소가 액중에 용존해 수중 pH를 낮게 만들었으나, 조류가 액중의 용존무기탄소를 흡수 이용함으로써 즉 산성유발물질이 제거됨으로서 상대적으로 알칼리도가 증가하여, pH가 급격히 증가한 것으로 생각된다. pH곡선은 액중 잔존무기탄소 농도변화와 정반대의 경향을 나타내고 있어, 무기탄소농도가 pH변화의 주원인물질임을 알 수 있다. 자연수계에서는 pH가 CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-} 간에 평형을 유지하고 있다. 그러나 조류에 의해 이 평형이 파괴되면 HCO_3^- , $(CO_2 + OH^-)$ 의 반응이 일어난다. 따라서 조류가 CO_2 를 이용하므로써 pH가 상승한다.

<Fig.6>는 본 실험에서 얻어진 pH와 액중무기탄소의 상관성을 나타내고 있다. 그래프로부터 얻어진 상관계수(R^2)는 0.983으로 매우 높은 상관관계가 얻어졌다. 따라서 무기탄소, pH 및 조류수간¹²⁾에는 큰 상관관계가 있고, pH가 급격히 상승하는 것은 수중무기탄소의 급격한 소비되고 있음을 의미한다. 4일 이후부터 pH가 완만하게 상승함은 수중무기탄소가 거의 소비되어 잔존량이 낮기 때문이다. 이상의 결과로 보아 공장 배기가스중의 CO_2 를 처리할 때, CO_2 를 조류반응조 내에 주입시켜, 조류에 의해 흡수고정시키는 방법도 검토 가능하다고 생각된다. 만일 이 경우, 증식된 조류는 다

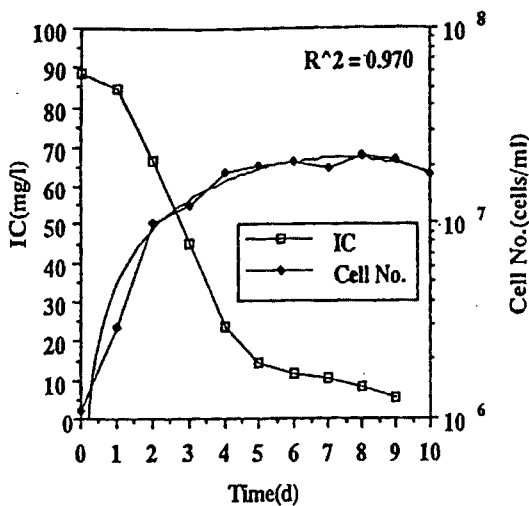


Fig. 4. The change of IC and algae population

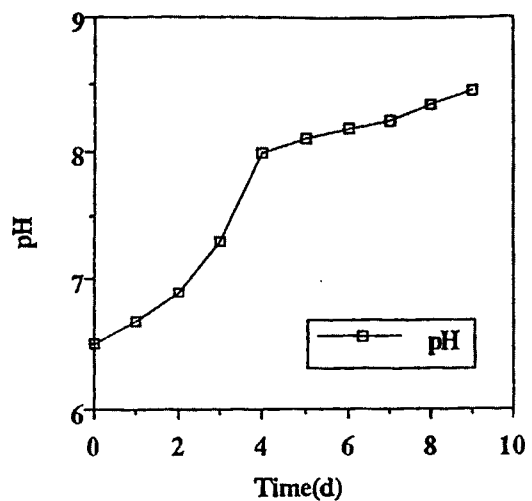


Fig. 5. The change of pH with time

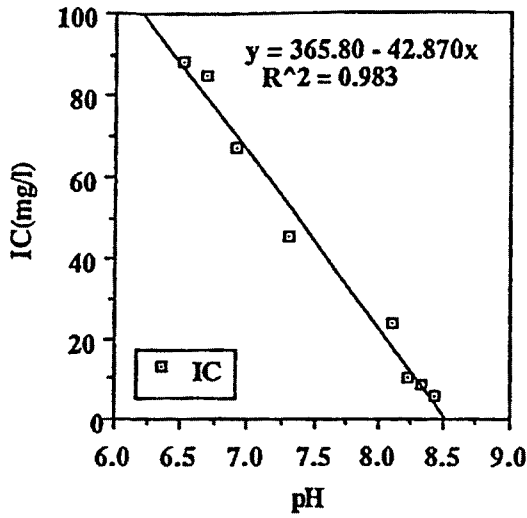


Fig. 6. The correlation of pH and IC

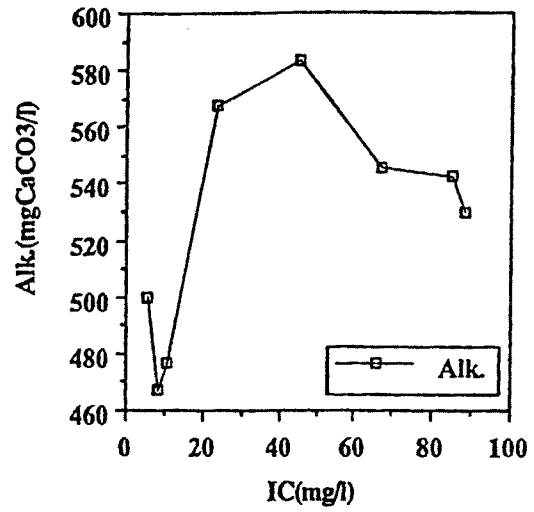


Fig. 8. The change of IC and alkalinity

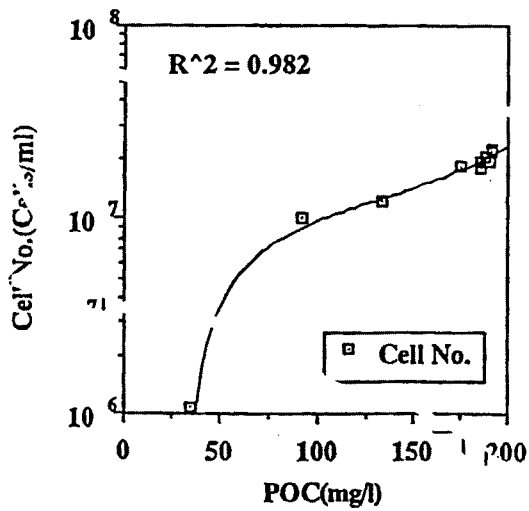


Fig. 7. The correlation of POC and algae population

시 가축 및 양어용 사료, 유용물질 추출 등의 목적으로 이용가능해 CO₂제거와 유용물질 회수라는 잇점을 동시에 가지게 된다.

<Fig.7>은 입자상 무기탄소와 조류 개체수와와의 상관관계를 나타낸 것으로, 상관계수(R²)는 0.982로 매우 높은 상관관계가 얻어졌다. 이로써 입자상 무기탄소는 대부분이 조류임을 알 수 있었다.

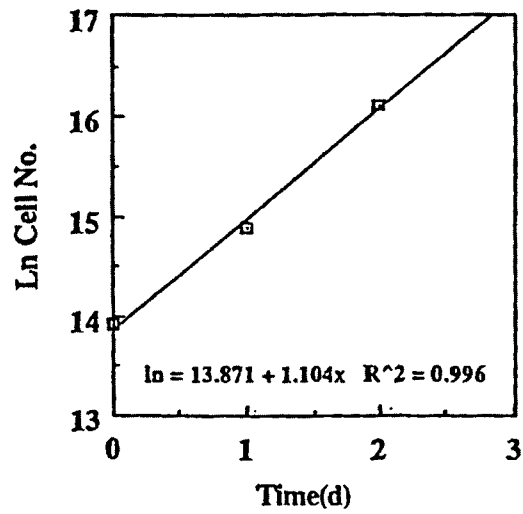


Fig. 9. The specific growth rate of algae

<Fig.8>은 무기탄소 및 알칼리도의 변화^{13,14)}를 나타내고 있다. 알칼리도는 무기탄소농도가 약 50 mg/l 될 때까지 증가했다. 그러나 무기탄소가 서서히 감소하여 pH8.3이상에서는 급격히 감소했다.

3. 비증식속도

<Fig.9>는 시간에 대한 비증식속도(μ)^{15,16)}를 나타내고 있다. 이 때의 μ 값은 1.104/day였다. 이것

은 유기탄소원 글루코스를 기질로 했을 때의 비증식속도 0.354~0.786보다 훨씬 높은 값을 나타내어, 무기탄소원 CO₂가 유기탄소원 글루코스보다 기질 전환력이 크다는 것을 알 수 있었다. 또한 Monod 식⁹⁾에 의한 최대비증식속도(μ_{max}) 및 기질제한농도(K_s)값은 각각 9.21/day, 259mg/ℓ 였다.

IV. 결 론

녹조류 *Chlorella ellipsoidea*를 무기탄소제한배지에 배양한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *Chlorella ellipsoidea*의 개체수는 수중무기탄소가 제한영양인자로서 무기탄소의 농도에 따라 성장속도가 좌우되었다. 무기탄소의 감소(소비)에 따라 조류수는 증가했다.
2. 누적입자상유기탄소-누적소비무기탄소 및 누적소비무기탄소-pH간에는 정의 상관성이 존재하고, 각각 0.985 및 0.983의 높은 상관계수를 나타내었다.
3. Monod식에 따른 *Chlorella ellipsoidea*의 비증식속도(μ)는 1.104/d이고, 최대 비증식속도(μ_{max}) 및 기질제한농도(K_s)는 각각 9.21/day, 259 mg/ℓ 였다.

V. 전 망

이상의 실험결과로 온난화가스의 대량 배출원인 공장 배기가스중의 CO₂를 처리하고자 할 때, 발생 CO₂를 조류배양조 내에 주입시켜 흡수·고정시키는 방법도 검토 가능하다고 생각된다. 또한 물리·화학적 방법에 비해 에너지 요구가 적고 2차 오염의 발생이 적다는 장점이 있어 앞으로 고농도 집적배양기술이 확립된다면 보다 효과적인 방법이 되리라 예측된다. 또한 증식된 조류는 가축 및 양어용 고단백 사료, 생리활성효소 추출 등의 목적으로 이용 가능하며, CO₂제거와 유용물질 회수라는 잇점을 동시에 가지게 될 것이다.

참 고 문 헌

1. Rodhe, H.: A comparison of the contribution

of various gases to the greenhouse effect, *Science*, 248, 1217-1219, 1990

2. 高迅 正基 : 地球を 求める 바이오테크놀로지, 2-5, Ohm Press, 東京, 1991
3. 江上 信雄 : 實驗生物學 1, 158-186, 丸善, 東京, 1988
4. Siver, H. J. and Pirt, S. J.: Carbon dioxide inhibition of phototrophic growth of *Chlorella*, *J. of Genetic Microbiology*, 130, 2833-2838, 1974
5. King, D. L.: The role of carbon in eutrophication, *J. of Water Pollution Control Federation*, 42, 2035-2051, 1970
6. Brune, D. E. and Novak, J. T.: The use of carbonate equilibrium chemistry in quantifying algae carbon uptake kinetics, *European J. of Applied Microbiology and Biotechnology*, 13, 71-76, 1981
7. Goldman, J. C., Dennett, M. R. and Riley, C. B.: Inorganic carbon source and biomass regulation in intensive microalgal cultures, *Biotechnology & Bioengineering*, 23, 995-1014, 1981
8. Kuentzel, L. E.: Bacteria, carbon dioxide, and algae blooms, *J. of Water Pollution Control Federation*, 41, 1737-1747, 1969
9. Goldman, J. C., Oswald, W. J. and Jenkins, D.: The kinetics of inorganic carbon limited algae growth, *J. of Water Pollution Control Federation*, 46, 554-574, 1974
10. Devid, M. K.: The hydration of carbon dioxide, *J. of Chemistry Education*, 37, 14-23, 1960
11. 安部喜也, 半谷高久譯: 一般水質化學(上), 114-152, 共立出版, 東京, 1974
12. Gavis, J. and Ferguson, J. F.: Kinetics of carbon uptake by phytoplankton at high pH, *Limnology and Oceanography*, 20, 211-221, 1975
13. Brewer, P. G. and Goldman, J. C.: Alkalinity change generated by phytoplankton growth,

- Limnology and Oceanography, 21, 108-118, 1976
14. 北野 康: 炭酸鹽堆積物の 地球化學, 177-206, 東海大學出版會, 東京, 1990
15. Novak, J. T. and Brune, D. E.: Inorganic carbon limited growth kinetics of some freshwater algae, Water Research, 19, 215-225, 1985
16. Eppley, R. W., Rogers, J. N. and McCarthy, J. J.: Half saturation constants for uptake of nitrate and ammonia by marine phytoplankton, *Limnology and Oceanography*, 14, 912-940, 1969