ORIGINAL PAPER 원저

폐탄산가스 고정화를 위한 연속식 광반응기의 운전 인자 평가

신항식, 채소용, 장민영, 박봉선*

한국과학기술원 토목공학과, 중앙대학교 산업경영대학원 식품제조공학과*

(2000년 4월 27일 접수, 2000년 5월 22일 채택)

Evaluation of Operating Factors for the Continuous CO_2 Fixation with a Photobioreactor

Hang-Sik Shin, So-Ryong Chae, Min-Young Jang, Bong-Sun Park*

Department of Civil Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon

Department of Home Economics, Chung-Ang university, An-Sung*

ABSTRACT

The biological carbon dioxide fixation using microalgae has been known as an effective carbon dioxide reduction technology. With many environmental factors influencing microalgal productivity, the desirable cultivation factors were investigated using a green alga, *Euglena gracilis*. It has the high protein and vitamin E to be used as fodder. In batch culture with a photobioreactor, initial pH, temperature, carbon dioxide concentration and light intensity in the optimum cultivation condition were 3.5, 27℃, 5-10% and 520μmol/m^2/s, respectively. After that, the optimum hydraulic retention time (HRT) for the continuous cultivation was 4 days at carbon dioxide concentration of 10%. In this condition, the final dry cell weight was 1.2 g/ l .

Key words : Biological carbon dioxide fixation, *Euglena gracilis*, photobioreactor, continuous cultivation

초 록

미세조류를 이용한 생물학적 이산화탄소 고정화 방법은 이산화탄소를 효과적으로 제거할 수 있는 방법으로 널리 알려져 있다. 따라서 발전소 등에서 배출되는 폐탄산가스를 고정화 하기 위하여 미세조류의 성장에 영향을 주는 운전 조건을 평가하였다. 본 실험에서 사용된 *Euglena gracilis*는 산성 조건에서도 잘 성장하여 오염의 가능성이 적고, 고농도 이산화탄소(10-20%)에 대한 내성이 강한 것으로 알려져 있다. 또한, 단백질 함량이 풍부하고 세포벽이 얇아 배양 후 사료로의 이용성도 크다. 광반응기에서 회분식 배양을 이용하여 운전 조건을 평가한 결과 실험 조건에서 최적 pH는 3.5, 온도는 27℃, 이산화탄소 농도는 5~10%, 광도는 520μmol/m^2/s로 각각 조사되었다. 또한 이러한 자료를 기초로 하여 연속 운전을 실시한 결과 CO_2 농도 10%, HRT 4일에서 최종 건조 무게 1.2 g/ℓ 로 높은 성장율을 얻었다.

핵심용어 : 생물학적 이산화탄소 고정화, *Euglena gracilis*, 광반응기, 연속 배양

1.서 론

지구촌 시대가 도래하면서 지구 환경 보전에 대한 세계 각국의 관심이 나날이 증대되고 있다. 특히, 지구 온난화 현상은 극지방에 존재하는 빙하의 양을 감소시켜 해수면 상승을 초래하고, 수온의 상승으로 인한 엘리뇨(EL-Nino) 현상과 같은 이상 기후의 발생을 증가시키고 있다(Apel et al., 1994). 지구 온난화는 대기 중에 존재하는 온실 효과 가스(Greenhouse effect gas)가 주범인 것으로 알려져 있는데, 대표적인 온실 효과 가스에는 CO_2, N_2O, CH_4 등이 있고, 이들 중 화석 연료의 연소에서 주로 발생하는 이산화탄소가 가장 큰 영향을 주고 있는 것으로 알려져 있다(Schneider, 1989). 한편, 1994년 3월 "기후변화협약 (FRAME WORK CONVENTION on CLIMATE CHANGE)"이 발효된 이후로 이산화탄소 배출량 감축을 위한 국제적 논의가 진행되고 있으며, 배출되는 이산화탄소를 효율적으로 제어 및 제거할 수 있는 기술 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 우리나라의 경우는 전체 연료 사용량 중 화석 연료 의존도가 90%에 가까우며 온실가스 배출이 세계 배출량의 1.8% (1997년 세계 11위)로서 꾸준히 증가하고 있는데, OECD 가입으로 이산화탄소 배출량을 감축하는 조치의 시행이 불가피한 상황이다(환경부, 1998).

현재까지 이산화탄소를 제어하는 방법으로는 물리·화학적 제어 방법, 생물학적 고정화 방법, 해양 투기법 등이 사용되고 있는데, 생물학적 방법은 자연계의 탄소 순환을 이용하는 것으로 가장 환경 친화적인 방법으로 알려져 있으며 1980년대 중반 이후로 일본 및 국내에서 활발한 연구가 이루어지고 있다(한국화학연구소, 1996; 환경부, 1997; 이재영 외, 1999; 이선복 외, 1995). 특히 이 방법은 광합성효율이 고등식물에 비해 우수하고 상온·상압에서 반응이 진행되는 장점을 가지고 있다. 그러나, 고농도·대량 배양의 어려움, 반응기의 scale-up으로 인한 고정화 효율 저하, 생산된 biomass의 처분 등이 문제점으로 지적되고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 고농도·대량 배양이 가능한 반연속식 또는 연속식 배양 시스템의 개발이 필요하며, 광활용 효율의 저하를 방지하며 장기간 지속적으로 이산화탄소를 고정화 할 수 있는 운전 인자의 도출이 필수적이고, 생산된 biomass를 적절히 재활용하여 또 다른 폐기물이 생성되는 것을 예방할 수 있어야 한다.

따라서, 본 연구에서는 높은 이산화탄소 고정화율을 가지면서 장기간 운전할 수 있는 연속 배양 장치의 배양 방법을 확립하기 위하여, 산성 조건에서도 잘 성장하며 오염의 가능성이 적고, 고농도 이산화탄소에 대한 내성이 강하며, 단백질 함량이 풍부하고 세포벽이 얇아 배양 후 사료로의 이용성도 큰 *Euglena gracilis Z*를 이용하여 회분식 배양과 연속 배양 운전에서의 최적 운전 조건을 결정하였다(中野長久외, 1998; 박봉선, 1994).

2.실험 재료 및 방법

2.1 균주 및 배지

본 실험에서 사용된 균주는 고농도 이산화탄소에서도 성장이 활발하고 단백질 함량이 풍부하며 세포벽이 얇아 동물의 사료로서의 이용성이 높은 *Euglena gracilis Z*를 이용하였으며, 배양을 위해서 자체에 탄소원이 포함되어 있지 않은 Modified Cramer-Myers 배지를 수돗물에 제조하여 멸균하지 않고 특별한 경우를 제외하고는 pH를 3.5로 조정하여 사용하였다(Cramer and Myers, 1952).

2.2 광반응기

회분식 배양 : 높이가 69㎝, 표면적이 625㎠인 Jar-fermenter(유효부피 25ℓ)와 1ℓ 시약병을 사용하였다.

연속 배양 : 유효 부피 72ℓ 인 반응기로서 반응기 중간에 일정한 간격으로 격벽(baffle)을 설치하여 연속적으로 유입된 배지가 일정한 체류시간이 지난 뒤 유출되도록 하였다.

두 반응기 모두 빛은 형광등을 설치하여 형광등의 수로 빛의 세기를 조절하였고, 공기와 이산화탄소를 혼합한 후 총 2ℓ /min의 유량으로 조절하였으며, 가스 공급에 의한 배지의 증발을 막기 위해 water mixer를 거쳐 100% 습도로 포화시킨 후 반응기에 공급하였다. *E. gracilis*는 CO_2 5%에서 2주 이상 순응시킨 후 부피비로 3~5% 접균 하였다. 반응기내에 원활한 가스 공급과 교반을 위해서 상단에 교반기를 설치하였다.

2.3 회분식 배양

온도 및 초기 pH 영향 평가 : 일정한 온도가 유지되는 항온조내에서 1ℓ 시약병을 이용하여 실험하였다. 배양시 광도는 110 μmol/m²/s, 이산화탄소 농도는 CO_2 10% (=0.36g CO_2/min, 1atm, 27℃)를 유지하며 총 2ℓ /min의 유량으로 주입하였다. 온도는 15, 20, 27, 35℃로 변화시켰으며, 초기 pH는 3.5, 7, 9로 변화시켜 가며 미세조류의 성장을 관찰하였다.

광도 및 이산화탄소 농도 영향 평가 : Jar-fermenter (thickness = 10mm)를 사용하였으며, 광도는 148-520μmol/m²/s, 이산화탄소 농도는 0.035-15%에서 변화시켜 가며 실험하였다.

2.4 연속 배양

운전 조건 평가 (CO_2 농도, HRT, pH): 연속 배양시 CM배지를 유입수 line을 통해 반응기 내에서 일정 HRT를 갖도록 유입시켰다. 이때 CO_2를 고정화하여 성장한 조류는 유출 line을 통해 settling tank로 보내지고 이를 원심 분리한다. 이때 CO_2 농도는 5, 10 %와 HRT는 3, 4일로 변화시켜가며 성장을 관찰하였다. 그리고, 광원의 종류에 따른 미세조류의 성장 변화와 배양 기간동안의 pH 변화를 관찰하였다.

2.5 분석방법

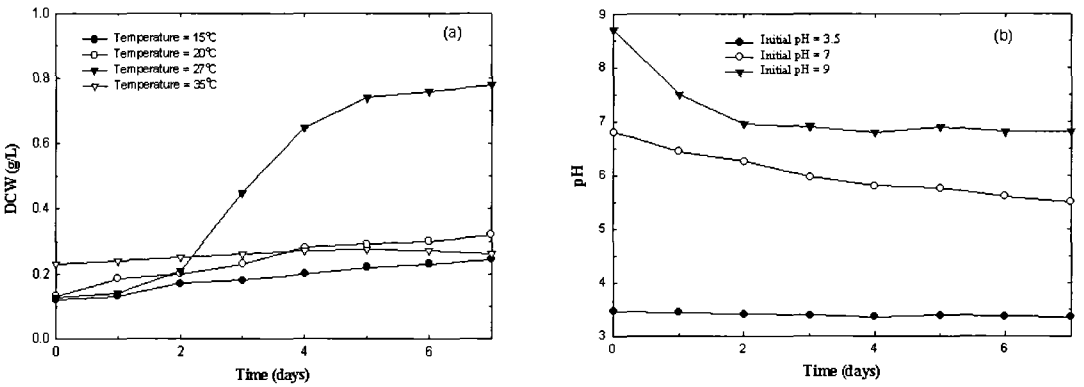
미세조류의 성장 상태를 파악하기 위해 건조 무게를 시료 10㎖ 취하여 0.45㎛ membrane filter로 여과한 후 80℃ oven에서 24시간 건조한 후 무게차로 결정하였다. 그리고 세포 수는 위상차 광학 현미경(ZEISS, Germany)과 hemocytometer를 이용하여 직접 계수 하였다. 반응기에 공급되는 광도는 Li-250 light meter (quantum sensor, LI-COR, inc. USA)를 이용하여 반응기 표면적을 같은 면적으로 등분하여 측정한 후 평균값으로 구하였다. 한편, 미세조류의 단위 무게당 이산화탄소 고정화 능력을 평가하기 위하여 원소 분석을 실시하였는데, *E. gracilis*를 배양한 후 3000rpm에서 5분 동안 원심분리 하고, 80℃ oven에서 하루 동안 건조시킨 후 EA1110-FISONS 원소 분석기를 사용하여 분석하였다. 배양 조건에 따른 미생물의 변화를 관찰하기 위해 image analyzer (LEICA Q550 IWB)를 이용하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

3.1 회분식 배양

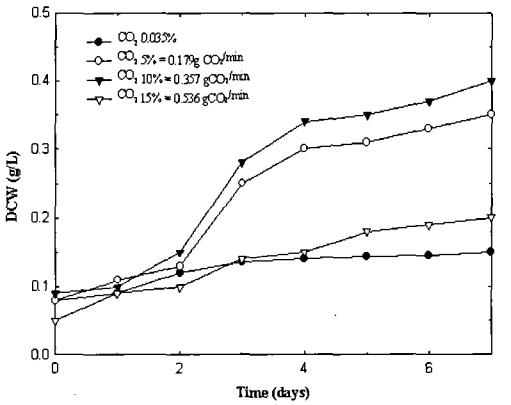
온도 및 초기 pH가 미세조류 성장에 미치는 영향: **[Fig. 1a]**에서 볼 수 있듯이 27℃에서 가장 좋은 성장을 나타내었는데, 이때 대수 성장기 동안의 성장속도는 0.22g/ℓ /day이었다. 15℃와 35℃에서는 정상적인 성장이 이루어지지 않은 것을 알 수 있다. 특히 35℃에서 배양한 경우에는 배양 후 7일째에 건조무게가 감소하는 것으로 관찰되었다. 한편, 초기 pH 3.5에서 가장 좋은 성장을 나타내었다. **[Fig. 1b]**에는 초기 pH에 따른 *E. gracilis*의 성장 변화와 배양 기간 동안의 pH 변화를 나타내었다.

이산화탄소 농도가 미세조류 성장에 미치는 영향: 발전소에서는 연료에 따라 15%(중유), 13% (석탄),



[Fig. 1] 온도와 pH 변화에 따른 E. gracilis의 성장 변화 (CO_2 10%, 110 μmol/m2/s).

10% (LNG)의 이산화탄소가 배출되고 있다. 따라서 본 연구에서는 CO_2농도를 0.035, 5, 10, 15%로 변화시켜가며 *E. gracilis*의 성장을 관찰하였다. [Fig. 2]에서 볼 수 있듯이 CO_2 농도 5%와 10%에서 비슷한 성장을 나타내었으며, CO_2 농도 15%에서는 성장 속도가 감소하였다.



[Fig. 2] 이산화탄소 농도에 따른 *E. gracilis*의 성장 변화 (520㎛mol/m²/s , 27±1℃).

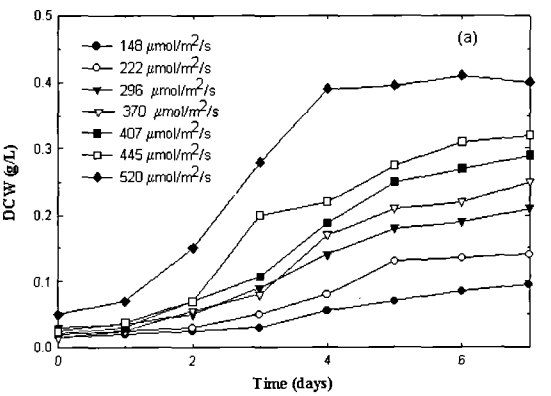
광도가 미세조류 성장에 미치는 영향 : 광합성을 하는 미세조류에게 빛은 유일한 에너지원이다. 본 연구에서는 광도를 형광등 수를 변화시켜 가며 148~520 ㎛mol/m²/s로 유지하여 실험하였다. 그 결과 [Fig. 3a]에서와 같이 광도 520㎛mol/m²/s에서 최종 건조 무게는 0.4g/ℓ 로 가장 좋은 성장을 나타내었다. 이 범위에서 최종 세포수와 광도는 [Fig. 3b]와 같이 직선적인 상관관계를 나타내었고, 빛에 의한 저해 현상(photo inhibition)은 관찰되지 않았다.

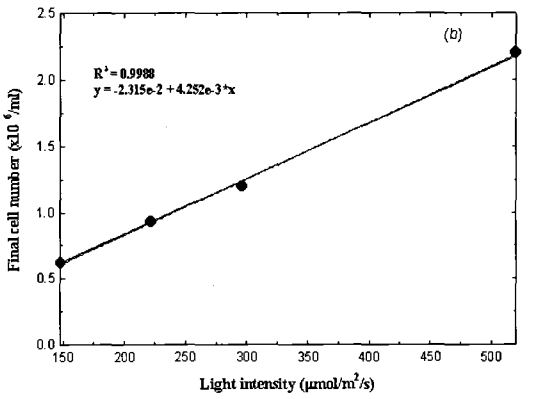
원소 분석: 원소 분석 결과에 따르면 배양된 *Euglena gracilis Z*의 C, H, O, N의 구성비는 각각 64.8, 7.7, 13.7, 13.8%이었다. 그 결과 *E. gracilis Z*의 분자식을 $C_{6.28}H_{8.88}ON_{1.15}$로 나타내었으며, 분자량은 116.3g이었다. 그리고, 수율 계수(yield coefficient) Ycell/CO_2는 0.42 g cell/g CO_2로 나타났다.

3.2 연속 배양

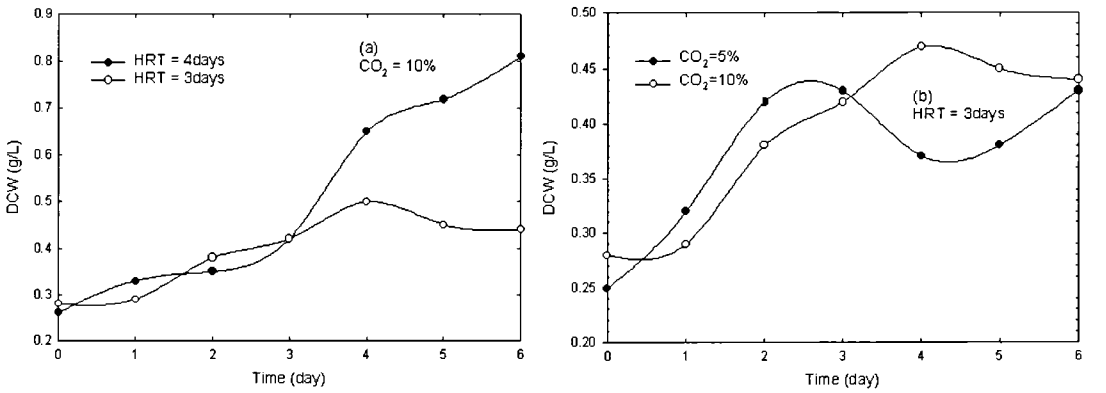
운전 인자 평가: CO_2 10%에서 HRT변화에 따른 성장 변화를 [Fig. 4a]에 나타내었는데, HRT가 3일에서 4일로 증가할수록 미세조류의 성장이 증가한다는 것을 알 수 있다. 이는 HRT가 증가하면 새로운 배지의 체류시간이 증가하게 되고 이에 따라 미세조류는 공급되는 배지의 영양염류와 CO_2를 충분히 섭취할 수 있게 되어, 보다 원활한 성장이 이루어진 것으로 사료된다. 한편, [Fig. 4b]에서와 같이 HRT를 3일로 고정하고 CO_2농도를 5, 10%로 증가 시켜가며 배양하였을 때는 미세조류의 성장에 큰 차이가 없었다. 이러한 결과를 종합하면, CO_2 농도 10%, HRT 4일에서 최종 건조 무게 1.2 g/ℓ 로 가장 좋은 성장이 관찰되었다.

광원의 종류에 따른 성장 변화: 형광등과 식물 재배용 램프를 사용하여 실험한 결과와 배양 기간 동안의 pH변화를 [Fig. 5]에 나타내었다. [Fig. 5a]에서 볼 수 있듯이 식물 재배용 램프를 사용한 경우의 최종 건조 무게가 형광등을 사용한 경우보다 조금 높은 것을





[Fig. 3] 광도에 따른 E. gracilis의 성장 변화 (CO2 10% , 27±1℃).



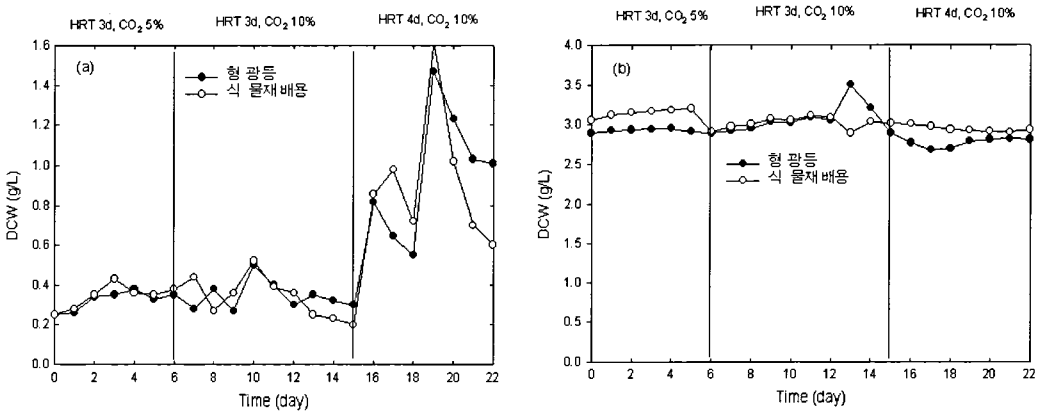
[Fig. 4] 연속 배양시 HRT와 CO_2 농도에 따른 *E. gracilis*의 성장 변화 (형광등, 27±1℃, 480㎛mol/㎡/s).

알 수 있다. 하지만 식물 재배용 램프가 더 고가이므로 경제성을 고려할 때 형광등을 사용하는 것이 더 바람직하다고 판단된다. 또한 [Fig. 5b]와 같이 pH는 2.8~3.3의 일정한 값을 유지하였다. 있다. 따라서 연속배양에서 이러한 pH의 변화는 미세조류의 성장에 큰 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있다.

4.결 론

1) *E. gracilis*를 회분식으로 배양하였을 때 최적 온도는 27℃, 초기 pH는 3.5, CO_2 농도는 10%, 광도는 520㎛mol/㎡/s인 것으로 확인하였다.
2) 원소 분석결과 cell 1g 당 2.38g의 CO_2를 고정화하는 것으로 나타났다.
3) 연속 배양시 운전 조건을 다르게 하여 성장을 비교한 결과 HRT 4일에서 CO_2 농도를 10%으로 하였을 때 최종 건조 무게 1.2 g/ℓ 로 가장 좋은 성장을 보였다.
4) 형광등과 식물 재배용 램프를 광원으로 사용하여 실험한 결과 식물재배용 광원을 사용한 경우가 더 좋은 성장을 보였지만 큰 차이를 보이지는 않으므로 경제성을 고려할 때 형광등을 사용하는 것이 보다 합리적이라고 사료된다.
5) 연속 배양시 CO_2 농도와 HRT 변화에 무관하게 pH는 3~3.5로 성장에 적합한 수준으로 유지되었다.

이러한 연구 결과는 향후 발전소 등에서 대량 배출되는 폐탄산가스 제어를 위한 방법으로 사용되면 지구 온난화 방지에 대한 적극적인 대응책으로 제시될 수 있을 것으로 사료된다.



[Fig. 5] 연속 배양시 광원에 따른 건조 무게와 pH 변화 (27±1℃, 480㎛mol/㎡/s).

감사의 글

본 연구는 1998년 농림부 농림기술개발사업의 일환으로 농림부의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Apel., W. A., Michelle R. Walton, and Patrick R. Dugan. (1994) An evaluation of autotrophic microbes for the removal of carbon dioxide from combustion gas streams. fuel processing technology, 40, pp.139~149.
2. Cramer, M. and Myers, J. (1952) Growth and photosynthetic characteristics of Euglena gracilis, Arch. Mikrobiol., 17, pp.384~402.
3. Schneider, S. H. (1989) The greenhouse effect: science and policy, Science, 243, pp.771~781.
4. 박봉선 (1994) Euglena: 新素材로서의 研究開發의 現狀과 應用. 한국유기성폐기물자원화협의회 학회지, 2(1), pp.135~144.
5. 이선복, 박찬범, 서인수 (1995) 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 개발, 화학공학의 이론과 응용, 1(1), pp.11~14.
6. 이재영, 강현아, 양지원 (1999) 반연속식운전에서 Chlorella sp. HA-1의 이산화탄소 고정화 특성. 한국생물공학회지, 14(16), pp.742~746.
7. 한국화학연구소 (1996) 생물학적 방법에 의한 온실기체(CO_2) 회수 및 동물사료 생산 기술 개발.
8. 환경부 (1998) 기후변화협약대응 종합대책(요약)
9. 환경부 (1997) 이산화탄소의 화학적 및 생물학적 고정화 기술 (제2단계 1차년도 보고서), pp.319~396.
10. 中野長久 외 9명 (1998) 조류의 식량 자원화 개발에 관한 연구, CELSS (Japan), 10, pp.13~23.