

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2024.16.1.036>

ISSN 2383-5400 (Online)

최적 배양 조건을 이용한 CO₂ 제거 목적의 담수 미세조류 *Parachlorella kessleri*의 바이오매스 생산성 향상

Enhanced Biomass Productivity of Freshwater microalga, *Parachlorella kessleri* for Fixation of Atmospheric CO₂ Using Optimal Culture Conditions

김지훈^{1*}, 홍선우², 김진우², 손병락³, 김미경⁴, 김용환⁵, 설진현⁶, 전수환¹Z-Hun Kim^{1*}, Sun Woo Hong², Jinu Kim², Byungrak Son³, Mi-Kyung Kim⁴, Yong Hwan Kim⁵, Jin Hyun Seol⁶, and Su-Hwan Cheon¹¹(주)휴에버그린팜, 인천광역시, 21447, 대한민국²인하대학교 생명공학과, 인천광역시, 22212, 대한민국³대구경북과학기술원 에너지융합연구부, 대구광역시, 42988, 대한민국⁴(주)에코파이코텍, 경상북도 경산시, 38542, 대한민국⁵(재)해양심층수산업 고성진흥원, 강원도 고성군, 24747, 대한민국⁶(주)워터코리아, 대구광역시, 42250, 대한민국¹Hu evergreen Pharm corp., Incheon, 21447, Korea²Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon, 22212, Korea³Division of Energy Technology, DGIST, Daegu, 42988, Korea⁴Ecophycotech Corp., Kyungsan, Gyeongsangbuk-do, 38542, Korea⁵Goseong Deep Sea Water Industry Foundation, Goseong, Gangwon-do, 24747, Korea⁶Waterkorea Corp., Daegu, 42250, Korea

(Received 20 Jan 2024, Revised 28 Feb 2024, Accepted 15 Mar 2024)

Abstract This study attempted to improve the growth of the freshwater microalgae, *Parachlorella kessleri*, through the sequential optimization of culture conditions. This attempt aimed to enhance the microalgae's ability to fixate atmospheric CO₂. Culture temperature and light intensity appropriate for microalgal growth were scanned using a high-throughput photobioreactor system. The supplied air flow rate varied from 0.05 to 0.3 vvm, and its effect on the growth rate of *P. kessleri* was determined. Next, sodium phosphate buffer was added to the culture medium (BG11) to enhance CO₂ fixation by increasing the availability of CO₂(HCO₃⁻) in the culture medium. The results indicated that optimal culture temperature and light intensity were 20°C-25°C and 300 μE/m²/s, respectively. Growth rates of *P. kessleri* under various air flow rates highly depended on the increase of the culture's flow rate and pH which determines CO₂ availability. Adding sodium phosphate buffer to BG11 to maintain a constant neutral pH (7.0) improved microalgal growth compared to control conditions (BG11 without sodium phosphate). These results indicate that the CO₂ fixation rate in the air could be enhanced via the sequential optimization of microalgal culture conditions.

Keywords : microalgae, *Parachlorella*, CO₂ fixation, gas flow rate, photobioreactor

서 론

산업혁명 이후 인류의 급속한 문명화 및 산업화는

* Corresponding author

Phone: +82-32-438-7010 Fax: +82-32-438-7011

E-mail: kimzhun@gmail.com

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative

Commons Attribution Non-Commercial License

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

고도화된 현대사회를 구축하였다. 이러한 사회를 유지하고 발전시키기 위해서 전 세계적으로 많은 양의 에너지를 사용하게 되고, 이는 대부분 화석연료 (e.g., 석탄, 천연가스, 석유 등)의 사용을 통해 이루어지고 있다. 구체적으로 2019년 현재 전 세계의 에너지 사용량은 1,815 Mtoe(The tonne of oil equivalent)에 이르며[1], 이 중 84%는 화석연료로부터 얻어지고 있고, 이는 다양한 형태의 환경오염물질 (e.g., CO₂, NO_x, SO_x, 미세먼지 등)을 발생시킨다[2]. 특히 화석연료 사용으로 발생하는 이산화탄소 (CO₂), 메탄(CH₄), 아산화질소(N₂O) 등의 온실가스는 이상기온 현상, 해수면상승, 생태계 이상 등의 심각한 기후변화의 원인으로 인식되고 있어, 지구의 생태계와 인류의 생존을 위해 시급히 절감할 필요가 있다[3].

온실가스 중에서도 이산화탄소는 지구온난화에 미치는 기여도인 지구온난화지수(global warming potential; GWP)는 타 가스보다 낮으나, 전체 온실가스 배출의 80%를 차지하고 있어 효과적 제거 방안이 필요하다. 대기의 이산화탄소의 농도는 산업혁명이 발생한 이후 지속적으로 상승해 왔으며, 1890년대 0.029%에서 130여년이 지난 지금 0.042%까지 치솟아 인류역사상 최대치를 기록하고 있다[4,5]. 이와 같은 증가는 가뭄, 홍수, 폭염, 폭설 등의 기후 변화에 주된 원인으로 밝혀져, 2015년 파리기후협약과 UN기후협약 등을 통해 전 세계적으로 이산화탄소 발생량의 저감과 대기 중에 배출된 이산화탄소의 고정화에 대한 노력이 이뤄지고 있다.

미세조류는 광합성 능력을 지닌 단세포 생물체로서 주로 담수와 해수지역에서 생존한다. 지구에는 약 20만종이 넘는 미세조류가 분포하는 것으로 추정되고 있으며, 극지방, 온천지역 등의 극한의 조건에서도 발견될 만큼 생존성이 강하다[6]. 특히 해양지역에 서식하는 조류는 지구 광합성의 약 90%를 담당하여 지구 생태계의 탄소자원 순환에 핵심적 역할을 담당하고 있을 뿐만 아니라, 먹이사슬의 가장 아래에 존재하는 1차 기초생산자로 생태계에서도 중요한 생물체이다. 30억년 전 출현하여 현재의 지구의 대기 형성에 기여한 것으로 보고되고 있다. 특히

미세조류는 육상 식물에 비해 성장성이 약 50배이상 빠르다. 미세조류는 고효율의 광합성 기구인 엽록체의 rubisco(Calvin cycle)에 의해 이산화탄소가 고정되고, C3 유기산은 지질(lipid)이나 전분(starch)로 생합성되어 저장한다. 수계의 오염원인 질소, 인 등을 이용하여 빠르게 흡착하여 수십 년 전부터 이산화탄소 제거는 물론 농업 폐수, 공업 폐수, 가정 폐수 등을 정화시키는 용도로 사용되어 왔다[7]. 최근에는 생물공학 기술의 발달로 유용한 미세조류를 대상으로 개방형 배양장치 및 폐쇄형 광생물반응기 시스템을 활용하여 고농도 대량배양기술이 개발되었다. 이를 통해 산업적으로 활용성이 높은 미세조류 종을 이용하여 환경오염원 제거뿐만 아니라 생리활성물질 생산, 동물사료, 바이오에너지 및 플라스틱 소재 등의 다양한 분야에 활용 중에 있다[8].

이산화탄소 저감을 위한 미세조류의 활용은 주로 연소가스가 발생하는 공장에 배양장치를 설치하고 광생물 배양장치에 가스를 주입하여 용존 무기 이산화탄소(inorganic carbon dioxide)를 미세조류가 바이오매스화 하는 방식으로 이루어져 왔다[9]. 최근 들어 기후변화의 심각성으로 인해 도심지나 실내의 공기개선에 목적을 둔 미세조류 배양장치들의 개발이 국내외적으로 활발히 일어나고 있다. 예를 들어 세르비아 베오그라드 대학 연구팀은 Liquid 3라는 미세조류 배양장치를 도심에 설치하여 공기질 개선을 하고자 하였다[10]. 멕시코의 BiomiTech사는 도시의 공기질 개선을 위해 도심형 미세조류 나무인 BioUrban을 개발하여 운영 중에 있다[11]. 미세조류를 이용하여 대기의 이산화탄소를 효과적으로 고정하기 위해서는 적절한 광도 및 온도 조건을 제공해야 하며, 적절한 배양기를 선정하고, 무기염류의 농도 등을 잘 조절할 필요가 있다. 그러나 미세조류를 대기 내 이산화탄소만으로 배양하는 것은 한계점이 존재한다. 질소나 인과 같은 무기염류는 배지 내 용존된 상태로 존재하지만, 대기 중의 이산화탄소 기체는 물속에 용해도(1.45 g/L at 25°C and 100 kPa)가 낮고, 농도(0.03-0.04%)가 낮아 가스형태로 공급하였을 때, 탄소원을 원활히 공급하기 어려운 점이 있다. 또한 일반적으로 미세조류 배양 시 이산화탄소

를 1-10%농도로 공기와 혼합하여 탄소원을 공급하고, 동시에 탄산염 형태변화에 따라 pH의 완충작용(carbonate buffer system)을 통해 배양액의 pH를 중성에 가깝게 유지하게 해준다[12,13]. 그러나 미세조류가 성장함에 따라 pH는 점차 높아져 이를 공기에 포함된 이산화탄소만으로 일정 pH유지가 어렵게 된다. 실제 미세조류의 농도가 높아질수록 pH가 9-10까지 높아지는 것은 흔히 발견되는 현상이다[13,14]. 따라서 성공적으로 대기의 이산화탄소를 미세조류 배양을 통해 제거하기 위해서는 광도와 온도와 같은 중요조건인 탐색과 가스공급속도 및 적절한 pH유지 방법에 대한 연구가 필요하다.

미세조류를 이용해 대기 중 이산화탄소 고정하여 기후변화에 대응하기 위해 경상북도 울진군과 (재) 환동해산업연구원은 2022년 타당성조사를 수행하였으며, 이를 시험하고자 2023년에 실증연구사업을 수행하였다. 본 연구에서는 실증사업의 일환으로 담수 미세조류인 *Parachlorella kessleri*를 이용하여, 이산화탄소를 바이오매스로 고정화하는 실증연구를 진행하였다. 이산화탄소 고정화는 미세조류의 성장과 비례함으로 미세조류의 적정 온도와 광도조건을 탐색하고자, 고처리 광생물배양장치를 이용하여 조사한 조건별 미세조류 성장성을 탐색하였다. 또한 이산화탄소 제거 효율을 높이는 가스공급속도를 시험하고, 배양액의 pH 조절을 통해 고정화 효율을 제고하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 미세조류 균주 및 배양

본 연구에 사용된 담수 미세조류는 *Parachlorella kessleri* AG10112로 한국생명공학연구원에서 운영하는 생물자원센터에서 분양 받아 연구에 사용하였다. 배양배지는 미세조류 배양에 널리 사용되는 BG11 배지를 이용하였다. 배지의 조성은 NaNO₃ 1.5 g/L, K₂HPO₄ 0.04 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.075 g/L, CaCl₂·2H₂O 0.036 g/L, Citric acid 0.006 g/L, Ferric ammonium citrate 0.006 g/L, EDTA (disodium magnesium salt) 0.001 g/L, Na₂CO₃ 0.02 g/L, Trace-metal mix

A5 (H₃BO₃ 2.86 g, MnCl₂·4H₂O 1.81 g, ZnSO₄·7H₂O 0.222 g, Na₂MoO₄·2H₂O 0.39 g, CuSO₄·5H₂O 0.079 g, Co(NO₃)₂·6H₂O 0.0494 g/L) 1 mL/L 121°C, 1.5기압에서 15분간 멸균한 뒤 사용하였다. 형광등을 이용하여 연속적으로 50 μE/m²/s로 공급하였으며, 120 rpm의 교반속도와 20±1°C의 배양온도를 유지하였다. 공기주입조건에서의 미세조류 배양적응 및 대량배양을 위해 0.5 L와 2 L 원통형 광생물반응기(bubble column photobioreactor; BC-PBR)에서 균주를 유지하였다. 폭기속도는 0.1 vvm(gas volume per liquid volume per minute)으로 공기만을 펌프를 이용하여 주입하였다. 배양 광도와 온도는 100 μE/m²/s와 20±1°C의 조건에서 배양을 진행하였다. 균주의 일정한 유지를 위해 매 10일마다 주기적으로 계대를 실시하였다.

*P. kessleri*의 세포 크기 및 농도는 Coulter Counter(Multisizer 4e, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)를 이용하여 세포 크기 및 농도를 측정하였다. Coulter Counter에서 분석된 생체중량(fresh cell weight)을 건조중량(dry cell weight)으로 변환하기 위해서 미세조류를 건조하여 측정된 무게의 비율을 이용하여 계산하였다. 생체중량과 건조중량의 비가 3.4:1로 측정되어 이를 이용하여 환산하였다[15].

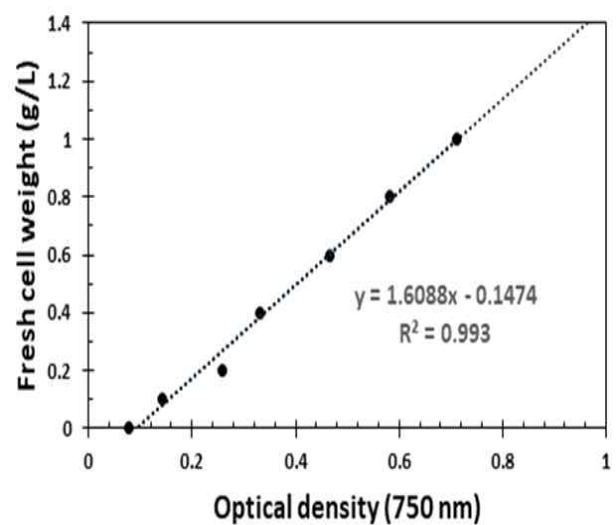


Figure 1. Calibration curve and the equation to measure fresh cell weight of *Parachlorella kessleri*.

2. 최적 온도 및 광도조건 탐색

*P. kessleri*의 다양한 온도와 광도에서의 성장성 분석과 최적 배양조건 탐색을 위해 고처리 광생물반응기(PhotoBiobox, Shinhwa Science, Daejeon, Korea)를 이용하였다[15]. Black round bottom 24-well plate(Eppendorf, Hamburg, Germany)에 *Parachlorella kessleri*를 OD₇₅₀ 0.1로 희석한 후 2 mL씩 분주하였다. 온도조건은 15°C에서 40°C로 5°C의 간격으로 총 6구간을 시험하였다($n=4$).

온도실험을 통해 도출된 최적 온도 조건을 적용하여 광도 실험을 수행하였다. 광도의 경우 50, 150, 300, 450 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 설정한 후 배양하였다($n=6$). 온도 및 광도 실험 모두 48시간 배양 후에 OD₇₅₀값 변화를 성장속도 변화 표기하였다(식 1). 배양 후 microplate absorbance reader(Victor X3, PerkinElmer, Inc., Waltham MA, USA)를 이용하여 배양 전과 후의 흡광도 값을 파장 750 nm에서 측정하여 성장성을 비교하였다. μ 는 미세조류의 비성장속도(/day), x_1 과 x_2 는 배양 전과 후의 OD₇₅₀값이며, t_1 과 t_2 는 배양시간을 나타낸다.

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

3. 가스공급속도와 미세조류 성장성

가스공급속도에 따른 미세조류의 성장성과 이산화탄소 고정화 속도를 분석하기 위해 다중 광생물배양기(Multi-cultivator; MC1000-OD, PSI, Drasov, Czech)를 이용하였다. 다중 광생물반응기는 100 mL의 배양액의 수용이 가능한 원통형 광반응기가 8개로 구성되어 있는 배양시스템이다. 가스속도에 대한 영향 실험을 위해 *Parachlorella*를 건조중량으로 0.05 g/L로 각 반응기 당 80 mL로 주입한 후, 가스공급속도를 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 vvm으로 설정하여 실험을 실시하였다. 가스는 공기만을 주입하였으며, 광도와 온도는 상기 실험에서 도출된 최적 조건을 이용하였다.

4. pH와 미세조류의 성장성

완충용액(Buffer solution)를 이용하여 배양액의 pH를 성장에 적절한 상태로 유지하여 HCO₃⁻의 가용성을 높여 미세조류 성장성을 향상시키는 실험을 수행하였다. pH완충용으로 널리 사용되는 0.1M Sodium phosphate buffer(SPB)를 1M Na₂HPO₄와 1M NaH₂PO₄를 2.89:2.12비율로 혼합한 후 BG11배지에 10%(v/v)를 첨가하여 pH를 7.0으로 고정한 배지를 제작하였다. 이를 SPB가 첨가되지 않은 BG11과 비교하여 성장성을 분석하였다.

5. 미세조류의 구성원소 분석 및 고정화된 이산화탄소 농도 계산

*P. kessleri*에 의해 고정화된 대기 이산화탄소의 농도를 계산하기 위해, 바이오매스 건조시료를 제작하였다. 미세조류 배양액을 고속원심분리기를 이용하여 3,000 rpm에서 20분간 운전하여 바이오매스만을 수확하였다. 수확된 바이오매스의 잔류 염분제거를 위해 증류수로 세척하고 원심분리하는 과정을 2회 반복하였다. 회수된 균체는 -70°C에서 동결 후 동결건조기를 이용하여 3일간 건조시켰다. 동결된 세포를 이용하여 *P. kessleri*의 원소분석을 수행하였으며, 탄소(C), 질소(N), 수소(H)의 경우 Elemental analyzer(Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)를 이용하였고, 인(P)의 경우 Inductively coupled plasma mass spectrometer(ELAN6100, PerkinElmer, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 분석하였다. 미세조류로 고정화된 이산화탄소의 양은 아래의 식(2)을 이용하여 계산하였다. F_{CO_2} 는 미세조류로 고정화된 CO₂의 농도(g/L)이고, C_c 는 *Parachlorella* 세포 내 탄소의 함량(%)이며, x 는 세포 농도(g/L), M_{CO_2} (g), M_c (g)는 이산화탄소와 탄소의 물질량이다[16].

$$F_{CO_2} = C_c(x_2 - x_1) \frac{M_{CO_2}}{M_c} \quad (2)$$

결과 및 고찰

온도와 광도에 따른 미세조류의 성장성

*Parachlorella kessleri*의 온도와 광도에 대한 성장성 변화를 관찰하고자 온도 15 - 40°C, 광도 50 - 450 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 고처리 광생물반응기를 이용하여 각각 실험을 수행하였다. Figure 2A에서 도시한 것과 같이 *Parachlorella*는 시험한 온도조건에서 40°C(0.22±0.05 /day)를 제외한 온도에서 약 0.3 /day의 유사한 성장성을 나타내는 것으로 확인되었다. 미세조류의 온도에 대한 성장성은 Arrhenius's equation을 따르는 것으로 알려져 있다. 다시 말해 최적 성장온도까지는 온도가 높아짐에 따라 성장성이 비례하여 증가하지만, 일정 임계온도 이상에서는 미세조류의 성장성이 저하되고 사멸되는 현상을 나타낸다. Oh *et al.*[17]보고에 의하면 *Chlorella vulgaris*의 다양한 온도에서 배양 시 최적 성장성을 나타낸 25°C와 가장 낮은 성장 온도인 15°C의 세포농도 차이는 4배 이상으로 나타났다. 이에 비해 *Parachlorella kessleri*의 경우 시험한 온도에서 균일한 성장성을 나타내었다. 이러한 특징은 계절에 따라 온도변화가 크게 나타나는 우리나라 환경에 적합하여 활용성이 높을 것으로 사료된다[18].

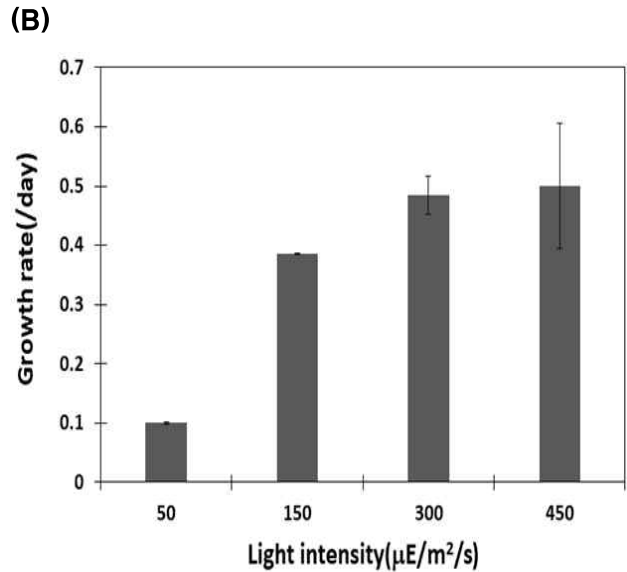
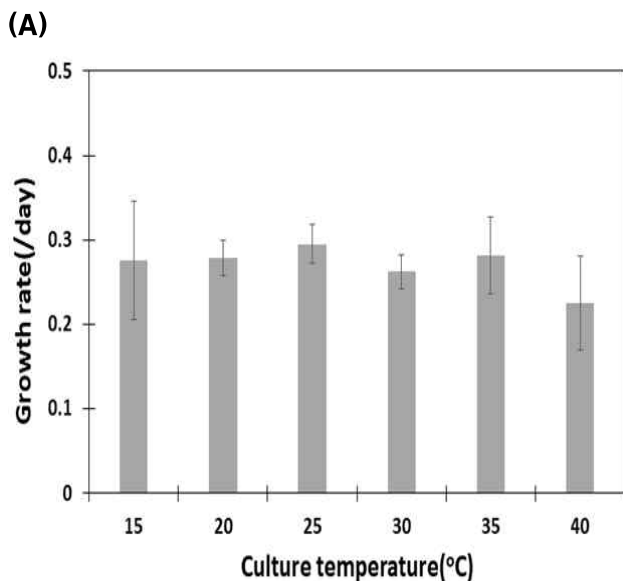


Figure 2. Growth rates of *Parachlorella kessleri* under different culture temperatures(15-40°C; A) and light intensities(50-450 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$; B). Growth rates of *Parachlorella* sp. were expressed as a specific growth rate using the Equation(1).

온도에 대한 성장성 실험을 통해 25°C를 성장에 적합한 온도로 설정하였다. 이 온도조건에서 변수를 광도로 하여 실험을 수행하였다. 광도의 경우 50 - 450 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 범위로 배양을 실시하여 성장속도 비교로 적합한 광도를 선정하고자 하였다. Figure 2B에서 도시한 것처럼, *Parachlorella*는 공급받는 광도가 높아질수록 성장속도가 증가하는 현상을 나타냈으며, 300 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 이상의 광조건에서 성장속도의 큰 변화는 관찰되지 않아 300 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 를 최적 광도로 설정하여 이후 실험에 적용하였다.

최적 배양조건 탐색

가스공급속도에 따른 미세조류의 성장성을 분석하고자 다중 광생물반응기에 가스 공급속도(0.05 - 0.3 vvm)를 달리하여 배양하였다. 미세조류 배양에서의 가스공급은 광배양되는 미세조류에 탄소를 전달하는 동시에 적절한 혼합을 통해 광자의 적절한 구배 및 영양염 전달에 중요한 영향을 미친다. 미세조류를 대기의 이산화탄소만으로 배양 시, 미세조류 생장의 제한인자로 이산화탄소 농도 영향이 클

것으로 판단된다. 대기 중에는 약 0.03 - 0.04%의 이산화탄소가 포함되어 있어, 1 - 10% 공기와 혼합하여 주입하는 미세조류 고농도 배양시스템과 비교하였을 때, 탄소원 부족으로 낮은 바이오매스 생산성이 예측 될 수 있다. 따라서 가스공급속도는 공기 중 이산화탄소 제거의 목적에서는 매우 중요한 것으로 판단되어 적절한 가스공급속도 설정이 필요하다.

Figure 3은 다양한 가스공급속도 조건에서 배양한 *Parachlorella*의 성장곡선과 pH 변화를 나타내고 있다(Figure 3A and 3B). 세포의 성장성은 가스공급속도에 비례적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 0.2 vvm 이상에서 뚜렷한 세포 생장이 일어나는 것을 확인하였다. 이에 반해 0.1 vvm 이하의 속도에서는 배양 5일차 이후부터는 세포의 농도가 서서히 감소하는 경향을 보였다. 이는 광합성 활동으로 배양액의 pH가 급격하게 상승하여 미세조류가 가용할 수 있는 중탄산염(HCO_3^-)의 농도가 낮아지게 된다. 따라서 탄소원 기질의 부족으로 미세조류의 성장에 제한된 것으로 판단된다[12,13]. 미세조류 생장이 가스속도에 종속적으로 나타나는 점이 이러한 현상을 보여주고 있다(Figure 3C). 배양액의 pH를 7.0으로 1N HCl용액을 이용하여 조절 후 배양 시 다시 성장속도를 회복하는 것을 관찰하여, 탄소원의 부족 및 pH변화에 따른 성장성 저해를 확인하였다(data not shown). 본 결과에서는 세포의 성장에 0.3 vvm을 효과적인 가스 공급속도로 설정하였다. 또한 pH의 조절로 세포 성장에 가용한 탄산염의 농도를 높여 바이오매스 생산성을 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다.

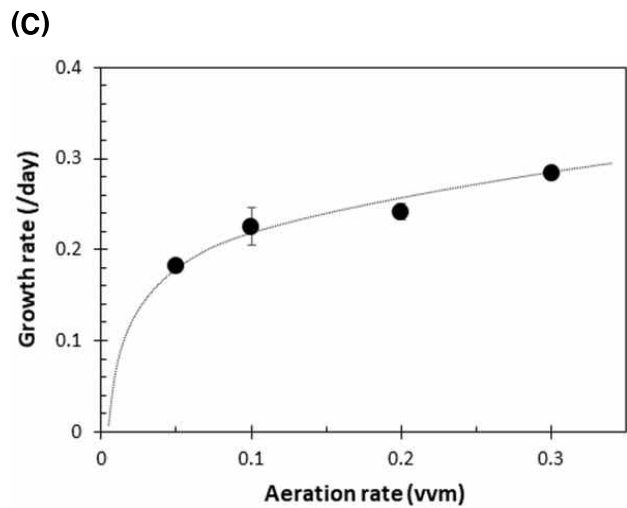
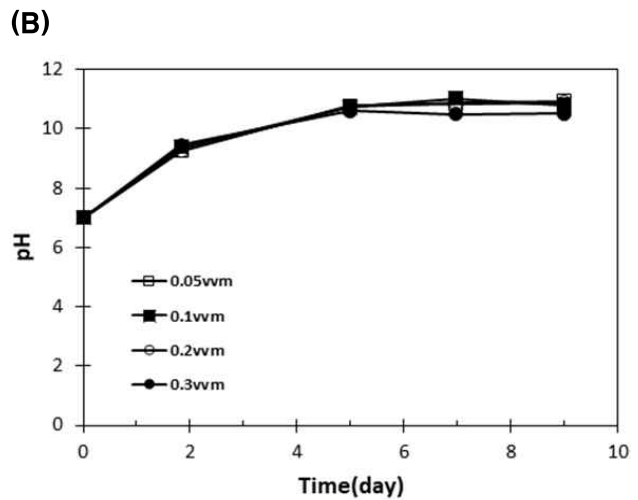
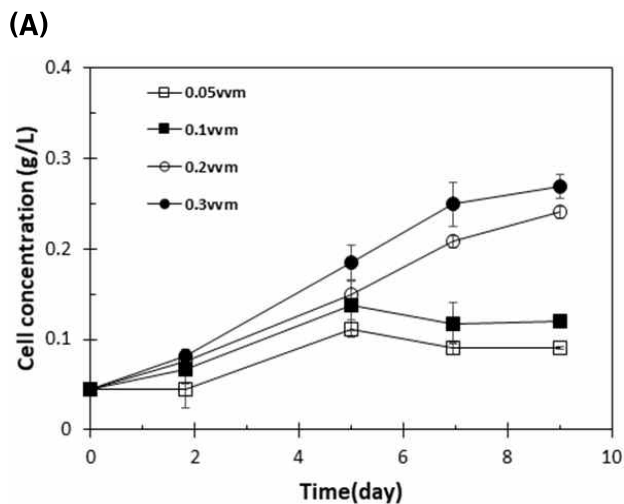


Figure 3. Growth(A) and pH(B) profiles of *Parachlorella kessleri* cultured under different gas flow rates. Growth rate of *Parachlorella kessleri* as a function of gas flow rate(C).

pH의 고정화를 통한 미세조류 성장성 향상

Bjerrum plot에 의하면, 용존 이산화탄소는 pH에 따라 3가지로 존재하는 형태($\text{CO}_{2\text{aq}}$, HCO_3^- , CO_3^{2-})가 변화하게 된다. 미세조류가 광합성에 주로 활용하는 중탄산염은 pH 6.5 - 8.5에서 주요한 탄산으로 존재한다 [19,20]. 따라서 pH의 급격한 변화로 미세조류의 성장을 제한할 뿐만 아니라, 부족 시에는 세포내 유기탄소원(e.g., 전분, 지질 등)을 활용하여 생존하게 된다. 따라서 가스공급으로 미세조류 배양액의 pH의 적절한 조절이 이산화탄소 고정화에 중요할 것으로 사료된다.

가스공급속도 실험으로부터 pH가 미세조류의 이산화탄소 고정화 효율을 높이고, 동시에 세포의 성장에 중요한 영향을 미치는 것을 확인하였다. 미세조류가 가용할 수 있는 중탄산염의 농도는 pH 7 - 8에서 가장 높게 존재한다. 따라서 pH를 고정화하고 자 SPB를 BG11에 첨가하여 pH를 7.1±0.1로 제작하였다. 상기 buffer시스템은 산-염기 적정이나 HEPES buffer를 첨가하여 제작하는 것에 비해 편리하고 별도의 장비가 필요하지 않으며, 저렴하게 활용이 가능하다[19].

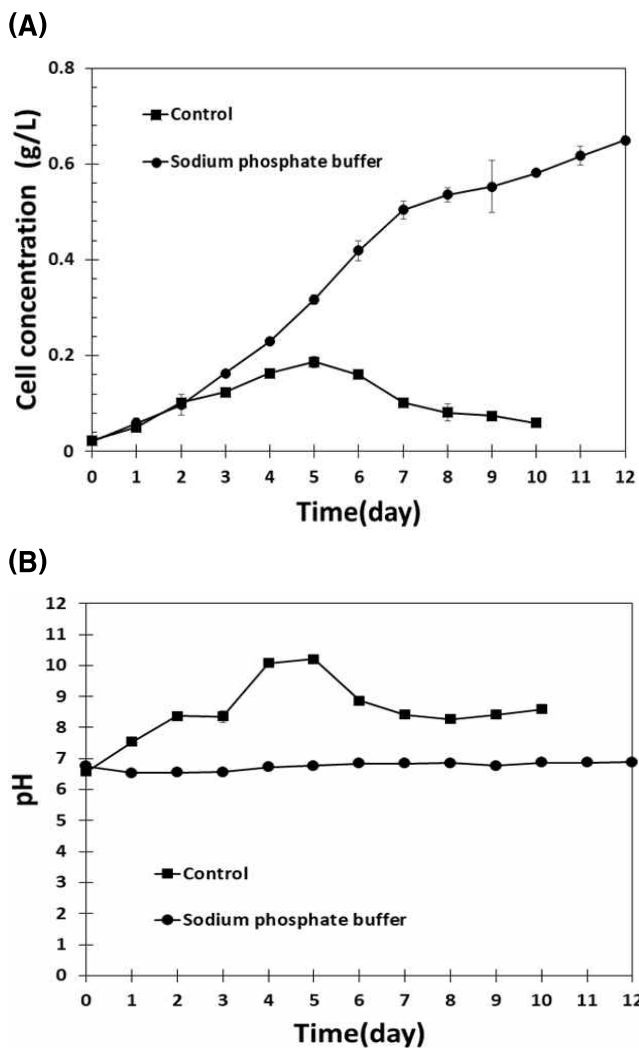


Figure 4. Growth(A) and pH(B) profiles of *Parachlorella kessleri* cultured in sodium phosphate buffer added BG11.

험을 진행하였으며, 성장 비교를 위해 SPB를 넣지 않은 BG11에 배양한 대조군과 성장비교를 진행하였다. Figure 4는 pH를 7로 고정화한 배지에서 성장한 *Parachlorella*의 성장 곡선이다. 접종 후에 2일간은 미세조류 생장이 대조군과 유사한 패턴을 보이며, 대수 성장하였다. 이후에는 SPB첨가군은 탄소원 기질의 제한을 받아 일정한 세포량 증식속도(linear growth)를 나타내는 중속 생장의 형태를 보였다. 이에 반해 대조군의 경우 배양 5일차부터 점차 세포의 양이 감소하였으며, 배양 10일차에는 대부분의 세포가 색소를 잃고(decolorization), 백화현상이 관찰되었다(Figure 5). pH의 경우 SPB첨가군은 초기 설정값(pH 7.1±0.1)을 배양 12일차까지 일정하게 유지하였으나, 대조군은 세포의 성장과 비례하여 pH가 최대 10.3까지 높아진 이후 세포 농도 감소와 같이 점차 낮아졌다.

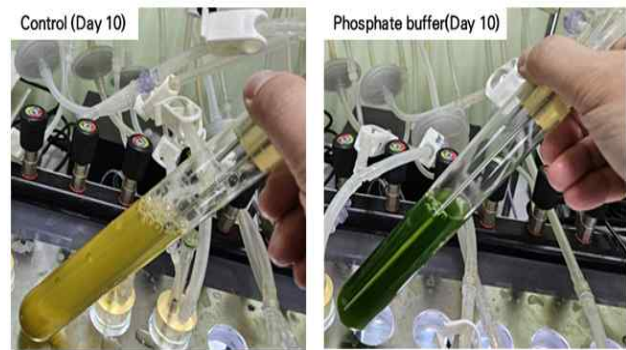


Figure 5. Photographs of *Parachlorella kessleri* cultured in a multi-cultivator system with sodium phosphate buffer added BG11.

세포 배양 후에 미세조류에 의해 고정화된 이산화탄소량을 산출하기 위해 *Parachlorella*의 원소분석을 실시하였다. 분석결과 Table 1에서 보는 것과 같이 탄소51.1±1.2%, 질소 7.9±0.5%, 인0.8±0.1%으로 분석되었다(n=2). 이는 같은 *Parachlorella*의 다른 연구보고와 유사한 수치이다(Table 1). 이를 바탕으로 이산화탄소 고정화량을 계산하였다. 배양 12일차 SPB실험군에서 얻은 세포화된 이산화탄소의 양은 1.25±0.03 g/L로 평가된다. 또한 배양 4일부터 6일까지 최대 바이오매스 생산성을 근거로 최대 일간 이

본 실험은 다중 광생물반응기를 이용하여 배양실

산화탄소 고정량은 0.21±0.02 gCO₂/L/day이 될 것으로 판단된다. 이산화탄소 공급조건의 배양에서의 바이오매스 생산성에 비교 시 낮은 수치이나, 기존의 *Dunaillella* sp.나 *Parachlorella* sp.를 이용 바이오매스 생산성이 0.01-0.07 gCO₂/L/day에 지나지 않는 것을 고려하였을 때, 3-20배 이상 높은 수치이다[20,21]. 그러나 추가적인 이산화탄소 고정화 효율성 상승을 위해 배양법 개발과 가스 공급방식에 대한 연구를 추가적으로 수행되어야 할 것이다.

Table 1. Elemental composition of *Parachlorella kessleri*.

Element	<i>Parachlorella Kessleri</i>	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
C	51.1±1.2	50.2	50
N	7.9±0.5	9.3	11
P	0.8±0.1	-	-
H	7.0±0.1	7.25	7
Refs.	This study	[22]	[23]

결론

본 연구에서는 담수 미세조류인 *Parachlorella kessleri*를 이용하여 대기의 이산화탄소 고정화 연구에 활용하였다. 우선 미세조류 성장에 중요한 영향을 미치는 온도와 광도를 탐색하여 성장에 적합한 조건을 확인하였다. 또한 미세조류 반응기에 공급되는 가스속도에 대한 시험을 통해 성장에 효과적인 가스속도를 결정하였으며, 미세조류의 성장 형태에 대해 확인할 수 있었다. 최종적으로 상기 실험에서 확인된 배양조건과 pH조절로 대기의 이산화탄소만으로 0.67 g/L의 바이오매스를 생산하였다. 향후 다양한 배양공정 개발 및 효과적인 배양시스템 개발을 한다면 공기질 개선에 미세조류의 활용성이 커질 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 경상북도와 울진군의 ‘기후변화대응, 한국형 인공해초나무 도입 및 실증사업’의 지원과 과학기술정보통신부에서 지원하는 DGIST기관고유사업에 의해 수행되었습니다(24-ET-01).

References

- Gain A. 2021. Fossil fuel energy and environmental performance in an extended STIRPAT model. *J. Cleaner Prod.* **297**, 126526.
- Chmielewski A. G. 1999. Environmental effects of fossil fuel combustion. *Interactions: Energy/Environment*, pp. 56-74.
- Vu H. T., Y. Liu, and D. V. Tran. 2019. Nationalizing a global phenomenon: A study of how the press in 45 countries and territories portrays climate change. *Glob. Environ. Change.* **58**, 101942.
- Ansuategi A. and M. Escapa. 2002. Economic growth and greenhouse gas emissions. *Ecol. Econ.* **40**, 23-37.
- Rae J. W.B., Y. G. Zhang, X. Liu, G. L. Foster, H. M. Stoll, and R. D. M. Whiteford. Atmospheric CO₂ over the past 66 million years from marine archives. *Annu. Rev. Earth. Planet. Sci.* **49**, 609-641.
- Vinitha E, L., K. Medlin, and J.-S. Ki. Molecular detection, quantification, and diversity evaluation of microalgae. *Mar. Biotechnol.* **14**, 129-142.
- Gerotto C., A. Norici1, M. Giordano. 2020. Toward enhanced fixation of CO₂ in aquatic biomass: focus on microalgae. *Front. Energy Res.* **8**, 213.
- Legrand J., A. Artu, and J. Pruvost. 2021. A review on photobioreactor design and modelling for microalgae production. *React. Chem. Eng.* **6(7)**, 1134-1151.
- Yadav G., B. K. Dubey, and R. Sen. 2020. A comparative life cycle assessment of microalgae production by CO₂ sequestration from flue gas in out-

- door raceway ponds under batch and semi-continuous regime. *J. Cleaner Prod.* **258**, 120703.
10. <https://liquid3.rs/>
 11. <https://www.filtsep.com/content/features/turning-pollutant-gases-into-oxygen/>
 12. Kim, Z.-H., H. Park, Y.-J. Ryu, D.-W. Shin, S.-J. Hong, H.-L. Tran, S.-M. Lim, and C.-G. Lee. 2015. Algal biomass and biodiesel production by utilizing the nutrients dissolved in seawater using semi-permeable membrane photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* **27**, 1763-1773.
 13. Cheah W. Y., P. L. Show, J.-S. Chang, T. C. Ling, and J. C. Juan. 2015. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresour. Technol.* **184**, 190-201.
 14. Jeon, H., Lee, Y., Chang, K. S., Lee, C.-G., and E. Jin. 2013. Enhanced production of biomass and lipids by supplying CO₂ in marine microalga *Dunaliella* sp. *J. Microbiol.* **51**, 773-776.
 15. Hong S. J., H. Kim, J. Min, H. Park, Z.-H. Kim, C. S. Lee, E. Jin, and C.-G. Lee. 2023. Effect of Light Intensity on Cell Growth and Carotenoids Production in *Chlamydomonas reinhardtii* dZL. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **15(2)**, 82-89.
 16. Ramos-Ibarra J.R., R. Snell-Castro, J.A. Neria-Casillas and F.J. Choix. 2019. Biotechnological potential of *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. microalgae to endure high CO₂ and methane concentrations from biogas. *Bioprocess Biosys. Eng.* **42**, 1603-1610.
 17. Oh S.-J., H.-K. Kwon, J.-Y. Jeon, and H.-S. Yang. 2015. Effect of monochromatic light emitting diode on the growth of four microalgae species (*Chlorella vulgaris*, *Nitzschia* sp., *Phaeodactylum tricorutum*, *Skeletonema* sp.). *J. Korean Soc. Mar. Environ. Saf.* **21(1)**, 1-8.
 18. Lee W.-K., Y.-K. Ryu, W.-Y. Choi, T. Kim, A. Park, Y.-J. Lee, Y. Jeong, C.-G. Lee, and D.-H. Kang. 2021. Year-round cultivation of *Tetraselmis* sp. for essential lipid production in a semi-open raceway system. *Mar. Drugs.* **19(6)**, 314.
 19. Lee S. Y., J. S. Lee, and S. J. Sim. 2023. Enhancement of microalgal biomass productivity through mixotrophic culture process utilizing waste soy sauce and industrial flue gas. *Bioresour. Technol.* **373**, 128719.
 20. Andersen. C. B. 2002. Understanding carbonate equilibria by measuring alkalinity in experimental and natural systems, *J. Geosci. Educ.* **50(4)**, 389-403.
 21. Kim Z.-H., K. J. Yim, S.-J. Hong, H. Jang, H.-J. Jang, S. M. Yun, S. H. Lee, C.-G. Lee, and C. S. Lee. 2023. Improving biomass productivity of freshwater microalga, *Parachlorella* sp. by controlling gas supply rate and light intensity in a bubble column photobioreactor. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **15(2)**, 41-48.
 22. Babich I.V., M. Hulst, L. Lefferts, J.A. Moulijn, P. O'Connor, and K. Seshan. 2011. Catalytic pyrolysis of microalgae to high-quality liquid bio-fuels. *Biomass Bioenergy.* **35(7)**, 3199-3207.
 23. Kebelmann K., A. Hornung, U. Karsten, and G. Griffiths. 2013. Intermediate pyrolysis and product identification by TGA and Py-GC/MS of green microalgae and their extracted protein and lipid components. *Biomass Bioenergy.* **49**, 38-48.