

남조류를 이용한 CO₂의 고정화 및 단세포 단백질의 생산

이기영 · 박진화* · 박부수

전남대 생물화공과, 물질화공과*

CO₂ Fixation and Single Cell Protein Production using Blue Green Algae. Ki-Young Lee, Jin-Hwa Park*, Bu-Soo Park. Department of Biochemical Eng., Department of Material Chemical Eng., Chonnam National University, Kwang-ju, 500-757, Korea - Blue green algae (NIES 19, 39, 46) have been cultivated to product single cell protein. After 7 days of cultivation under 5000 (W/m²) of light intensity, final cell concentration was 2.8 (g/L) and chlorophyll a was 4.9 (mg/L). When initial concentration of NaHCO₃ was 1.7% and NaNO₃ was 0.25%, maximum cell concentration was obtained. *Spirulina platensis* NIES 39 showed faster growth rate than NIES 46. While most 39 sedimented, most 46 floated.

근년 지구 환경을 위협하는 요인 가운데 하나가 대기 중의 탄산가스 농도의 증가에 의한 지구의 온난화 현상이다. 전세계적인 탄산가스 방출량 삭감의 대책으로서 에너지 이용의 효율화, 탄산가스를 방출하지 않는 에너지(원자력, 태양에너지 등)사용, 탄산가스 회수처분(해양 처분 따위), 탄산가스 회수이용기술에 대한 것이 검토된다. 본 연구는 탄산가스를 고정하여 유용한 물질로 변환시키는 미생물 반응을 이용하여 온실효과 가스 발생량을 줄이는 것을 목표로 삼는다. 남조류의 경우 탄산가스에서 만들어진 유용물질은 수소가스와 미생물단백으로 대별될 수 있지만 수소가스는 일반적인 호기조건에서 생산량이 적어 경제성이 없으므로(1) 미생물단백을 목적생산물로 삼았다. 일반 박테리아와 달리 세포의 크기가 큰 조류는 쉽게 침전되므로 분리가 용이하며 수율이 높다. 특히 주에너지원으로 태양에너지를 사용함으로써 지구 상에 조사되는 태양에너지의 효율적인 이용이 가능하다(2). 클로렐라는 녹조류로 일찍부터 식량단백질로 주목되었으나 생산비때문에 식량단백질보다는 건강식품과 생리활성물질 자원으로 이용된다. 이에비해 *Spirulina*는 남조류로 증식속도가 크고 혐기조건에서 잘 크므로 잡균에 의해 쉽게 오염되지 않는다. 더우기 세포벽이 약해 소화성이 좋으며 단백질 함량이 높으므로 유망한 단백질원으로 주목받고 있다(3). *Spirulina*의 단백질은 세계보건기구에서 제시한 이상적인 단백질보다도 나은 영양가를 보였다(4). 성 등(2)은 *S. platensis* LB 2340의 옥외 연속 대량 배양을 통해 0.3(1/day)의 비생육 속도와 1.69(g/l)의 최대 세포농도가 회분배양에서 얻었다. 또한 성 등

(5)은 축산폐수로부터 새로운 고 단백질 사료원의 생산 및 축산 폐기물의 처리의 이중적 효과를 얻기위해 광 배양조를 이용해 *Spirulina platensis* 15-1715를 배양하였다.

본 연구에서는 탄산가스를 탄소원으로 하여 증식하는 남조류 배양 실험에서 유의해야할 특징을 살피기위해 탄소원 농도, 질소원 농도, 광도등을 달리한 기초실험을 시행하고 생산물회수비용과 관련하여 최종생산물인 미생물균체의 분포상태를 수량화하였다.

남조류인 *Anabaena cylindrica* 19와 *Spirulina platensis* 39, 46을 NIES(National Institute of Environmental Study, Japan)에서 분양받아 실험에 사용하였다. 별도언급이 없는 한 *Anabaena cylindrica*는 KNO₃ 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.025%, K₂HPO₄ 0.025%, NaCl 0.01% 및 미량성분에서 배양되었고 *Spirulina platensis*는 NaHCO₃ 0.3~8.5%, K₂HPO₄ 0.05%, NaNO₃ 0.1~1%, K₂SO₄ 0.1%, NaCl 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.02%에서 배양되었다. 탄소원과 질소원은 실험에 따라 수정 첨가되었다. 남조류의 접종률은 12%이고 5000 W/m²의 빛을 조사하였으며 교반상태에서 30°C를 유지시켰다. 단세포 단백질의 양은 660 nm에서의 흡광도를 이용하여 간접적으로 측정하였고 chlorophyll a의 활성(mg/L) 역시 3중 흡광도법(664, 647, 630 nm)에 의해 측정되었다(6).

Fig. 1은 탄산가스를 이용하여 증식하는 *Spirulina platensis*균주들의 성장속도를 나타낸 것으로 *Spirulina platensis* 39는 *Spirulina platensis* 46보다 OD로 표시된 발효액의 탁도가 2배 이상이고 7일 후의 세포농도는 2.8 g/l였다. Fig. 2는 남조류가 접종된 배지위로 탄산가스(99%)를 불어넣어 안에 있는 공기를 탄산가스로 대체하고 시간에 따라 달라지는 기상의 기체농도를 측정한 결과이다. *Anabaena*의 경우(pH 5.6 세포농도 0.8 g/l)에는 탄산가스농도가 별로 감소하지 않았지만 *Spirulina* 39

*Corresponding author

Tel. 82-2-958-5831, Fax. 82-2-958-5805

E-mail: bhkim@kistmail.kist.re.kr

Key words: CO₂ fixation, Single cell protein, *Spirulina platensis*

(pH 9.8 세포농도 1.9 g/l)와 46(pH 9.7 세포농도 1.5 g/l)의 경우는 크게 감소하였다. 두 경우의 pH조건이 크게 다른 것으로 보아 탄산가스 농도 저감의 원인은 발효액의 pH나 미생물의 탄산가스 고정능차이와 관련될 것이다. 탄산가스 저감원인중 발효액 pH의 효과를 알아보기 위해 5%의 탄산가스(Ar 95%)를 불어넣어 접종이 되지 않은 액체 배지에서의 탄산가스 저감정도를 조사하였다. Fig. 3은 그 결과로서 pH에 따라 탄산가스 농도의 저감정도가 차이를 보였다. pH가 8이나 9였을때는 70, 80%의 저감률을 보였지만 pH가 10이었을때는 90% 이상의 저감률을 보였다. 이것은 pH 7.5 이상일 때 발효액의 pH증가에 따라 발효액에 녹을 수 있는 탄산가스 총량(CO₂+CO₃²⁻+HCO₃⁻)이 증가한다는 보고(7)와 부합된다.

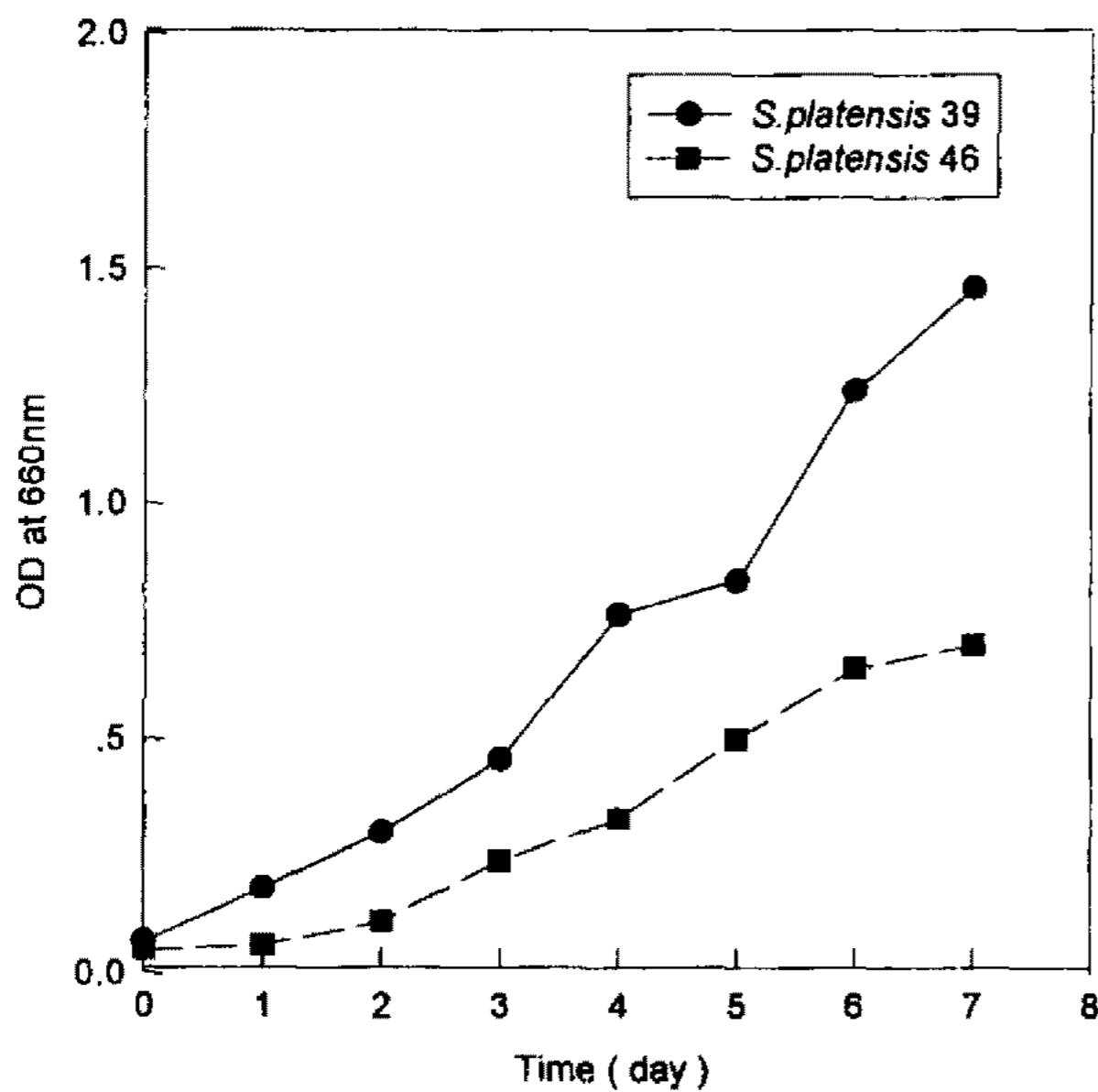


Fig. 1. Comparison of the growth of *Spirulina platensis* 39 and 46.

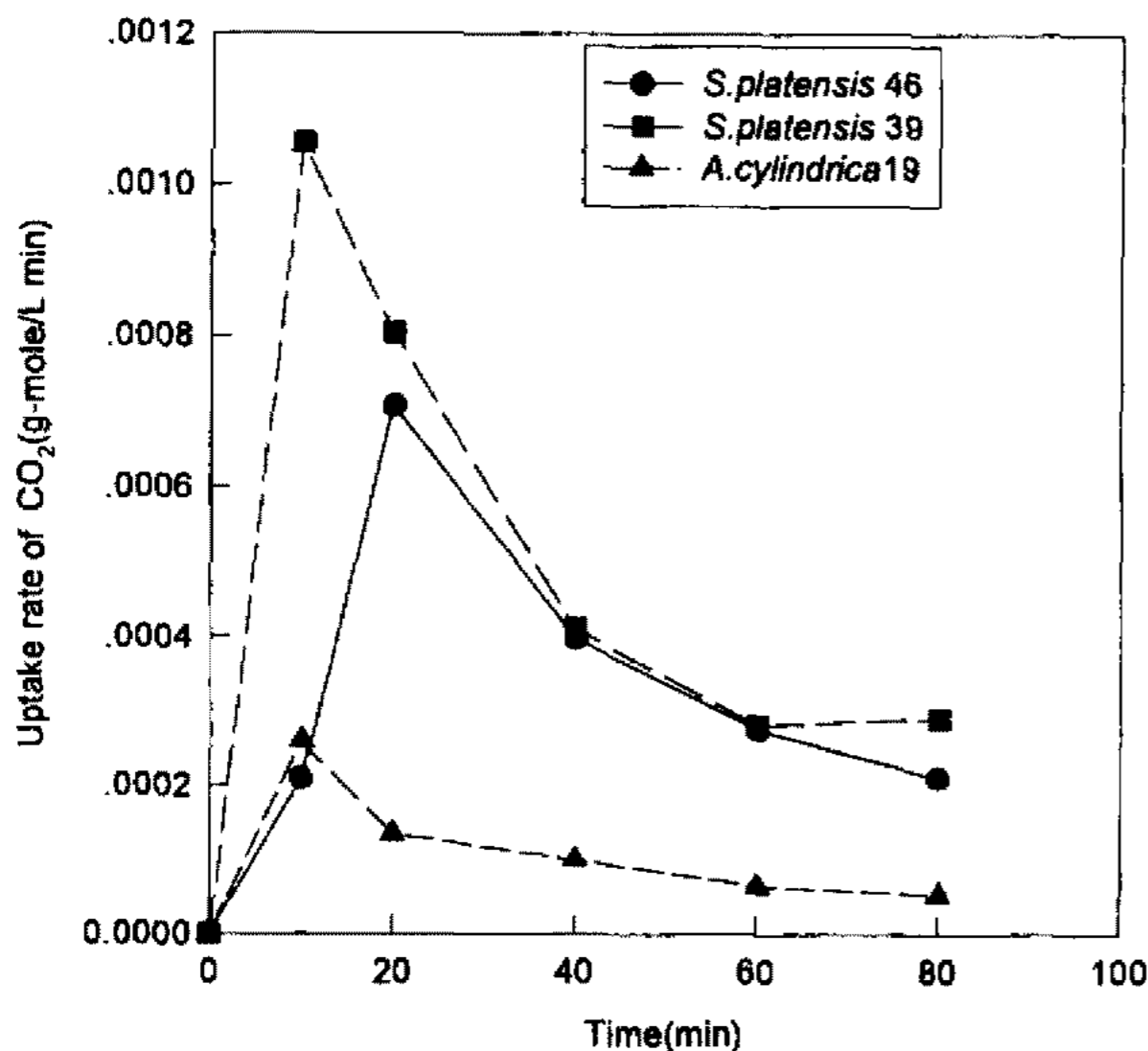


Fig. 2. CO₂ uptake rate in gas phase in case of inoculated medium.

이로써 미생물에 의한 탄산가스의 고정능 측정에 기체분석기만으로는 결정은 합당하지 않음을 알 수 있었다. 이후 탄소원은 NaHCO₃를 사용하였다.

Fig. 4는 탄소원인 NaHCO₃의 초기 농도에 따른 세포 성장 및 pH 변화값으로 1.7%일 때 흡광도가 1.5에 이르렀고 pH는 증가하여 10을 초과했다. pH가 증가하는 것은 광합성조류 배양의 일반적인 현상으로 탄산가스는 남조류에 의해 흡수되고 NaHCO₃의 일부는 강염기로 변한 것으로 판단된다.

Table 1은 빛을 조사하지 않은 경우와 조사한 경우의 세포량 및 chlorophyll a량의 변화를 측정된 실험결과이

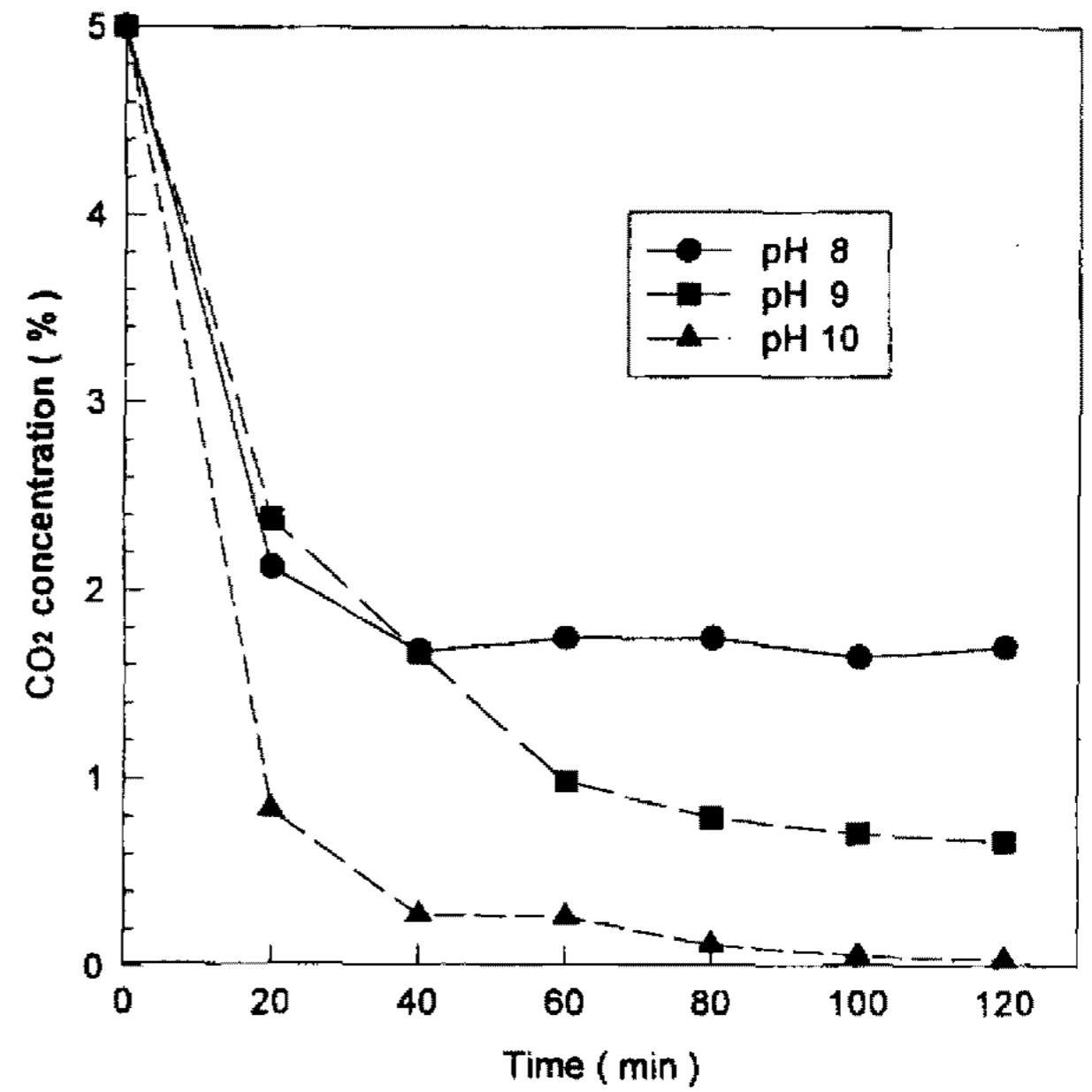


Fig. 3. CO₂ consumption profiles in case of non-inoculated medium.

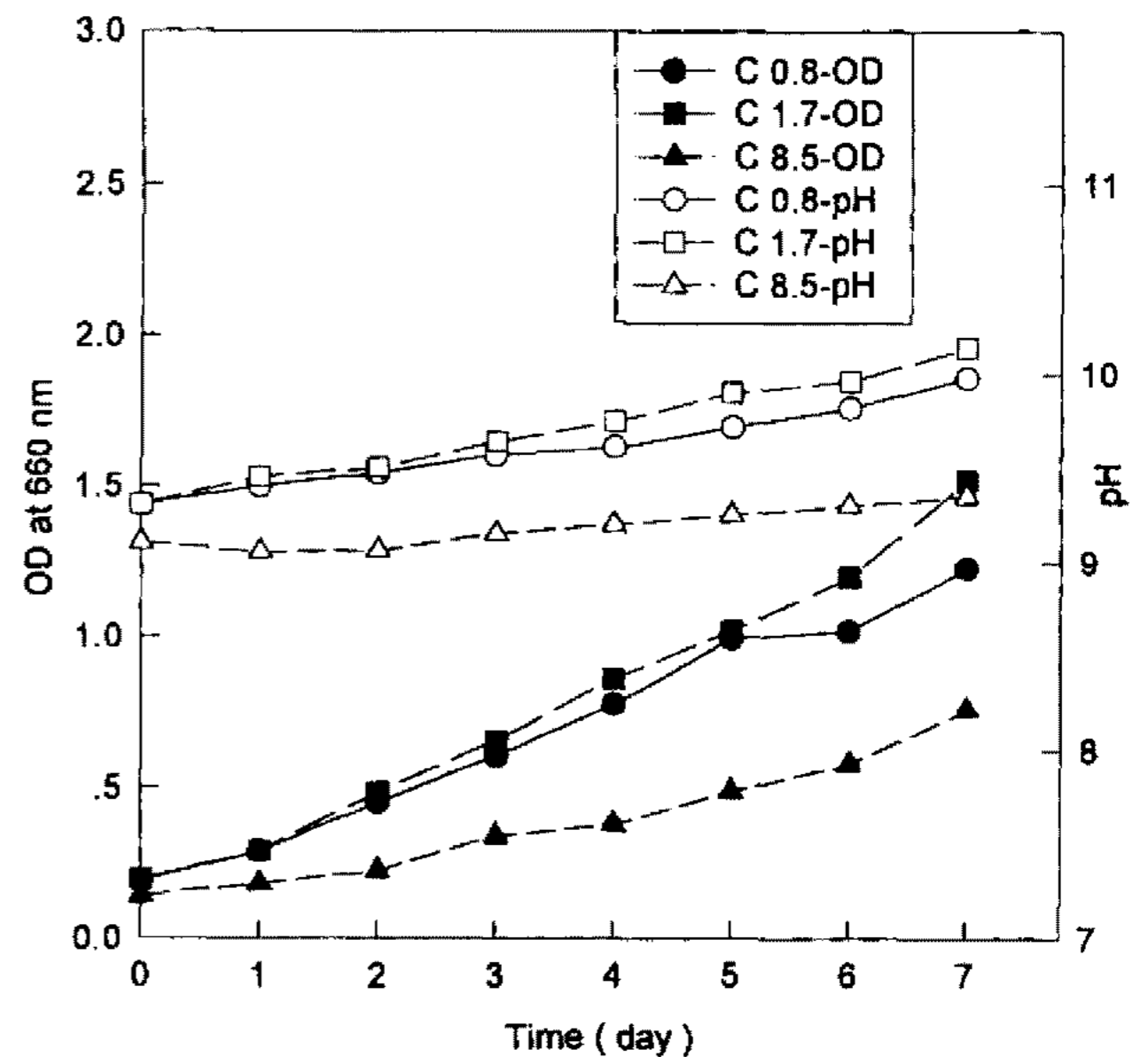


Fig. 4. Effects of carbon concentration on cell growth and pH.

Table 1. Effects of light on cell growth, pH and chlorophyll a

Time (day)	1	3	5	7
OD _{dark}	0.042	0.045	0.048	0.057
OD _{light}	0.18	0.46	0.84	1.46
Chlorophyll a _{dark} (mg/L)	0.312	0.456	0.48	0.59
Chlorophyll a _{light} (mg/L)	0.552	1.254	2.8	4.944

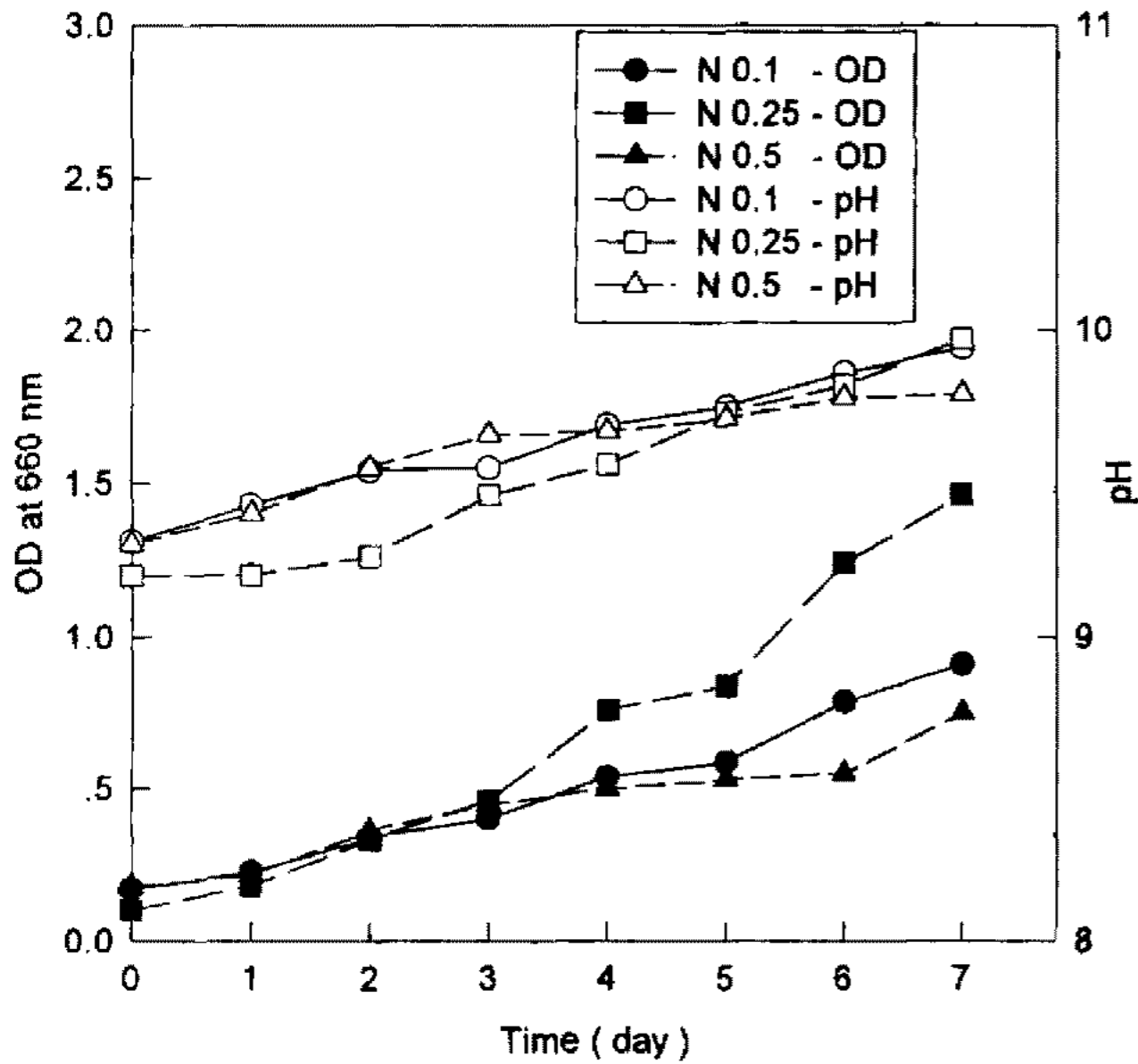


Fig. 5. Effects of nitrogen concentration on cell growth and pH.

다. 빛을 조사하지 않았을 때는 7일 후에 OD가 0.06, chlorophyll a가 0.59 mg/L로 되었지만 빛을 조사하였을 때는 OD가 1.46, chlorophyll a가 4.9 mg/L에 도달하였다. 이것은 이 미생물의 광합성 효과를 나타낸 것이다.

Fig. 5은 NaNO_3 0.1~0.5%에서의 세포성장 및 pH 변화값으로 0.25%일 때 pH가 가장 크게 증가했고 세포성장도 가장 컸다. 단세포 단백질 회수비용은 전체 생산비에서 중요부분이고 단백질의 분포장소와 균집정도에 따라 회수 방법과 회수 장치 및 회수비용이 달라진다. 이에 단백질의 분포상태를 660 nm에서의 흡광도로 측정하였다. 클로렐라의 경우는 단백질이 바닥에 침강하고 *S. platensis*의 경우는 위에 뜨는 것으로 알려졌으나(3) 실험에 본 결과 *S. platensis* 46은 시간이 경과함에 따라 위에 모였지만 39는 바닥에 쌓였다. 이에 따라 바닥에서 균체를 모을 수 있는 장비가 있을 경우에는 39가 유리하고 그렇지 않은 경우에는 위에서 걷어낼 수 있는 46이 유리하다. *S.*

*platensis*가 탈질, 탈인효과가 있음(5)을 고려하여 폐수처리공정에서 탈질 혹은 탈인용도로 사용될 때는 39가 활성오니로 사용될 수 있다.

위에서와 같은 남조류배양 실험에서 다음과 같은 사실을 알았다.

첫째 *Spirulina platensis*의 배양조건(pH 9 이상의 염기조건)에서는 탄산가스가 물에 과량으로 녹기 때문에 배출기체에서의 조성분석으로 탄산가스 흡수량을 측정하는 것은 어렵다.

둘째 *Spirulina platensis*는 광합성을 하므로 명조건에서 세포농도가 높게 배양되었고 초기배지조건 NaHCO_3 1.7%, NaNO_3 0.25%에서 7일 배양하였을 때 최대 건조 세포농도는 2.8 g/L에 도달하였다.

셋째 *Spirulina platensis* 39는 46보다 성장속도가 빨랐고 39가 대부분 하면에 침강하는 반면 46은 수면주위에 모였다.

감사의 글

본 연구는 1994년 전남대 학술진흥재단 연구비의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Asada Y. and Kawamura, S., 1984. Hydrogen evolution by *Microcystis aeruginosa* in darkness. *Agric. Bio. Chem.*, **48**(10): 2595-2596.
- 성기돈, 안주희, 이준엽, 오상집, 이현용. 1995. 옥외 광배양조에서 광합성 미세조류인 *Spirulina platensis*의 대량 배양에 대한 동력학적 연구. *한국생물공학회지* **10**: 401-405.
- 성락계. 1994. 미생물공학. Pp. 383-384. 형설출판사.
- Ortega-Calvo, J. J., and Mazuelos, C. 1993. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain, *Jl. Appl. Phycology*, **5**: 425-435.
- 성기훈, 이정호, 박영식, 김현규, 유호금, 오상집, 이현용. 1994. *Spirulina platensis*를 이용한 축산 폐수처리 및 고단백 사료원의 생산. *산업미생물학회지* **22**: 197-202.
- Eaton A. D., Clesceri, L. S., and Greenberg, A. E. 1995. Standard method for examination of water and waste water. United book press. Baltimore Pp. 17-20.
- 장호남. 1988. 생물화학공학. Pp. 172-173. 대영사.

(Received 3 July 1996)