

## 고율 조류 생세포체 培養池에서 照査 조건으로 본 조류 배양 특성

공 석 기

중부대학교 환경공학과

## Algae Culture Characteristics Viewed with Continuous and Cyclic Irradiation in High Rate Algae Biomass Culture Pond

Surk-Key Kong

*Department of Environmental Engineering, Joongbu University*

### Abstract

The utilization methods of algae biomass have been studied constantly in whole world. These are ①the wastewater treatment in waste stabilization pond and oxidation ditch etc. and ②the biosorption of heavy metals and recovery of strategic/precious metals and ③the single-celled protein production and ④the production of chemicals like coloring agent and ④ the production of electric energy through methane gasification. The culture system also has been developed constantly in relation with such utilization method developments. In the result of experimental operation under continuous and cyclic irradiation of light, using high rate algae biomass culture pond(HRABCP), which had been made so as to be an association system with the various items which had been managed to have high efficiency for algae culture, the algae production of the 12 hours-irradiance pond was 41.48 Chlorophyll-a  $\mu\text{g/L}$  only in spite of having the more chance of  $\text{CO}_2$  synthesis to algae cell than the 24 hours-irradiance pond. This means that the energy supply required for dark-reaction of photosynthesis is very important like this. The difference of algae production between continuous and cyclic irradiation explains that the dark-reaction of photosynthesis acts on algae production as the biggest primary factor. The continuous irradiance on HRABCP made the good algae-production(1403.97  $\mu\text{g}$  Chlorophyll-a/mg) and the good oxygen-production (5.8 mg  $\text{O}_2/\text{L}$ ) and the good solid-liquid seperation. Especially, DO concentration through the oxygen-production was enough to fishes' survival.

**KeyWords** : The algal biomass utilization methods, HRABCP, continuous/cyclic irradiation, dark reaction of photosynthesis, the good oxygen/algae production

### I. 서 론

도시화되고 있는 수도권 영향세력 아래에 있는 이른바 수도권의 지방 위성도시의 근교 및 농촌 지역 우리나라와 같이 하루가 다르게 급격히 산업화, 의 환경을 보호하기 위한 적극적인 환경친화적 폐

수처리 공법으로 고려해 볼 만 한 것이 WSP(waste stabilization pond) 공법<sup>1)</sup>이다. 이 WSP공법은 조류가 빛을 이용하여 탄소동화작용을 하는 생물체이므로 성장하는 조류를 이용하여 N, P같은 영양염류를 제거하려는 공학적 의도에서 비롯된 것이며 이 의도는 곧 조류 배양을 통한 영양염류 제거의 공학적 의미와 서로 통하고 있다.<sup>2)</sup> 이러한 의도는 이미 오래전부터, WSP공법과 유사한 산화구(oxidation ditch), 라군(lagoon) 등의 공법에서 이용<sup>3)</sup>되어 왔거니와 요즈음은 조류생체나 조류사체를 granule 혹은 powder로 만들어 중금속의 생흡착(biosorption of heavy metal)에 이용하고 있는데 이 algal biomass가 회귀 금속류의 생흡착을 통한 회수(recollection) 그리고 환경위해성이 큰 수질오염물질들의 생축적제제(bioaccumulation material)로서 각광 받고 있다.<sup>4)</sup> 이러한 조류 세포체의 이용이 WSP공법이 환경친화적 공법으로 자리잡게 하는데 더욱 고무적인 요소로 작용하고 있다.

생태계를 구조적인 관점에서 보았을 때 조류는 공기중의 태양에너지를 이용하여 수중의 비생물 환경에 존재하는 CO<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>O, N, P 등을 탈취하여 생물체들의 호흡에 절대적으로 필요한 산소(O<sub>2</sub>, oxygen)와 다음 Table 1.과 같은 고 단백질 유기물<sup>5, 6)</sup>을 만든다.

조류 세포체를 이용한 수질오염물질의 제거에 있어서 필연적으로 발생하는 조류 슬러지의 이용이 그 동안 algal culture system에서 얻어지는 algal biomass의 이용과 더불어 꾸준히 연구되어 왔다. 즉, ① 단세포-단백질의 생산 ② 화학원료 생산 ③ 에너지 생산<sup>7)</sup>이 그것이다. 이 연구들에는 조류와 조류생장(algal growth)의 수질오염물 처리로의 응용함이 갖는 다음과 같은 특성들 즉, 조류는 다른 수중 식물체와 마찬가지로 태양에너지를 생

화학적 에너지로 전환하고 무기탄소를 유기물로 합성하는 광합성-탄소동화작용 미생물체로서 개체군 성장형을 S자형으로 나타내며 이들이 지수 증식에 들어 섰을 때 영양물질들을 세포체내로 빠르게 흡수(intake)하는 동력학적(kinetic) 특성을 나타낸다는 점 그리고 생존에 있어서 다른 미생물들과는 다르게 높은 포용능력(carrying capacity)을 나타내는데 주어진 일정한 수 환경의 조건에서 특수 개체군(population)만이 높은 우점의 특성을 나타낸다는 점 그리고 이러한 조류의 특성을 수질오염물질의 생물학적 처리에 응용하는 것은 곧 환경의 생물 생태학적 안정성(bioecological stability)을 기하는 것이 되고 인류에 경제적 이익(economical merit to mankind)을 제공해 주는 것이 된다는 것<sup>8)</sup>이 고무적 요소로 작용하여 왔다.

## II. Algal biomass의 최적 생산을 지배하는 인자

조류는 여러가지 물리화학 조건중에서 광도<sup>9)</sup>, 수온<sup>10)</sup>, pH<sup>11)</sup> 그리고 N과 P같은 영양염류에 의해서 생물학적 군집의 특성을 나타낸다. 그러므로 algal biomass의 최적 생산을 지배하는 환경인자들에 대한 연구는 algal biomass의 최적 생산과 회수를 획득하기 위한 광도, 수온, 영양염류 농도 등<sup>12)</sup>과 같은 물리화학 조건(physicochemical condition)이 되어왔다. 특히, 조류는 독립영양계(autotrophic)이자 광영양계(phototrophic) 미생물(microorganism)이므로 조류가 광생물(photo-bioorganism)로 간주되어 왔고 영양염류 중에서 특히 NH<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub> P, NO<sub>3</sub>-N 등이 중요하게 여겨져 왔다<sup>13)</sup>.

## III. 조류배양에 있어서 광 조사 평가

### 1. 조류의 빛 이용 메카니즘

아주 오랫동안, 조류는 청명한 날씨의 태양광의 조도가 10000 LUX임에도 불구하고 흐린 날을 포함한 수표면에서의 간접 조도, 3000~4000 LUX에

Table 1. Nutrient components of algae cell produced by photosynthesis

components	%
protein	50
carbohydrate	25
lipid	5
ash	5

순응(adaptation)되어 왔다.

빛 에너지를 화학적 에너지로 전환시키는 역할을 하는 조류 세포내의 기관이 chlorophyll-a인데 chlorophyll a에서 일어나는 주요 반응은 광전효과(photoelectric effect) 반응으로서 보통 다음과 같은 과정<sup>14)</sup>으로 진행된다.

- (a) 광양자(photon)가 갖는 운동에너지의 크기가 피롤(pyrrrole)과 유기물의 결합으로 된 화합물의 최외각 전자를 들뜬 상태(excited state)로 만드는데 필요한 에너지보다 큰 경우에만 반응이 일어난다.
- (b) 이 에너지는 인접한 분자 중의 전자를 들뜬 상태로 만든다.
- (c) 전자각을 이탈한 전자 자체가 다른 분자로 이동되고 산화된다.
- (d) 생성된 에너지는 세포내에서 ATP와 NADPH 형태의 에너지로 합성된다.

## 2. 광합성 암 반응(dark reaction)과 광 저해(photoinhibition)반응

조류배양에 있어서 조류성장에 대한 광 조사의 영향을 평가함에 있어서 먼저 고려되어야 할 사항은 세포 운동성(cell motility)과 동조적 세포분열(cell segmentation of alignment)을 갖고 있는 조

류의 광합성 암 반응<sup>15)</sup>과 광 저해 반응<sup>16)</sup>인 바 그 이유는 다음과 같다.

(1) 광합성 명반응(light reaction)과 암반응

명반응은 광에너지의 전달과정을 통한 ATP합성과 세포원형질 사이의 protonmotive force 등의 생성반응으로서 비 순환적 광인산화(photophosphorylation) 반응이자 영양물질을 동화하기 위한 에너지 생성반응인 바 일반적으로 빛의 조사량이 증가하면 최적 빛의 조사량때까지 명반응은 증가한다.

암반응은 명반응과정에서 생성되는 ATP와 NADPH를 이용하여 CO<sub>2</sub>를 세포 유기물로 동화하는 반응으로서 반드시 빛이 없어야만 이루어지는 반응이 아니고 chlorophyll-a가 이용할 수 없는 광의 파장범위(680~685 nm)의 광 조사에서도 반응이 이루어질 수 있다.

(2) 광저해 반응

온도가 일정하고 빛의 세기가 일정한 경우에 있어서 빛의 조사량이 증가하면 광합성량이 증가하여 최대 조류 성장속도에 달하고 일정량을 넘게되면 광저해반응(photoinhibition reaction)을 일으켜 광합성량이 감소한다.<sup>17)</sup> 그 이유는 조류 색소체(algal pigment)인 chlorophyll-a가 Mg을 중심원소(centrosome element)로 하는 배위결합체로서 chlorophyll-a의 전자 고유 전동수에 근접하는 파

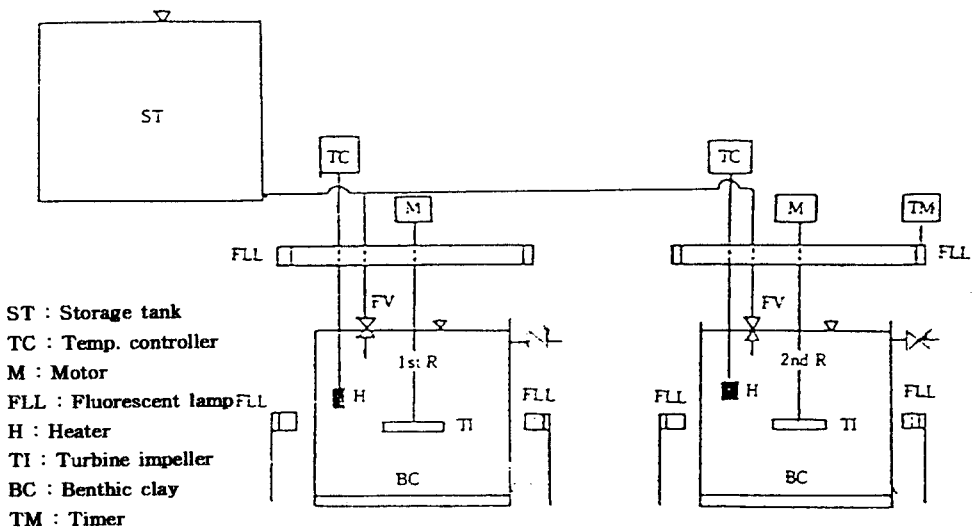


Fig. 1. Schematic diagram of pilot scale experimental apparatus

장, 685nm이하인 빛이 조류 세포체에 조사될 때에 만 공진효과(resonance effect)에 의하여 조류가 빛을 특히 강하게 흡수하기 때문이다.

본 연구에서는 algal mass culture에 대하여 이제까지 고려된 제반 연구결과들이 하나의 체계를 이루도록 파일럿 플랜트로 제작하여 이를 고율 조류 생체 배양지(high rate algal biomass culture pond)로 명명하고 12시간 및 24시간의 인공광의 조사를 통하여 배양조내에서의 조류 성장 특성을 실험적으로 규명하여 보았다.

### IV. 재료 및 방법

#### 1. 실험 장치

본 연구에 사용된 실험장치는 acryl판으로 된 저류조 및 반응조로 구성하였으며 저류조는 125 L 용량으로 제작하였고 반응조는 64 L 용량으로 2조 제작하였다. 반응조에는 온도 조절장치, 교반장치, 광 조사 장치, 수위 조절 장치를 부착하였다. 온도 조절 장치는 온수 제조기, 침지 heater 및 확인 봉상 온도계 및 thermostat를 이용 조합하였으며 교반장치는 터빈 임펠라 및 속도 가변 모터로 구성하였고 광 조사 장치는 전원 개폐 장치, 40W, 3과장 형광램프 12개 및 20W, 램프를 반응조의 23cm 상부 양 측면에 2개씩 설치하였다. 또한 수위 조절 장치로는 floating valve를 사용하였다.

#### 2. 실험 방법

본 연구를 위한 실험은 사용할 algal biomass 량을 확보하기 위한 preliminary 배양실험에서부터 출발하였는데 먼저, 팔당호 원수 64 L를 채수하여 반응조에 넣고 다음 Table 2. 내용의 영양염류를 투입한 후 수표면 조도 3000Lux, 수온 25℃, 교반속도 50rpm에서 1개월 동안 배양하였다. 그 다음에는 main 배양실험으로 우선, 반응기 구성조건으로서 반응조 내부 바닥에 powder로 제조된 clay를 3cm 두께로 깔았고 Table 3.에 종합한 인공 실험 영양염류를 제조하여 64 L씩 투입한 후 여기에 앞에서 배양된 조류 용액을 chlorophyll-a 농도가 0.47 mg/m<sup>3</sup> 되도록 희석하여 가하였다. 이 조류 혼합액

Table 2. Nutrient composition added for algae cultivation

Nutrient	Chemicals	Amount
macro nutrient	KNO <sub>3</sub>	80mg/ℓ
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	11.25mg/ℓ
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8.44mg/ℓ
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	250mg/ℓ
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	15.47mg/ℓ
	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	4.06mg/ℓ
	NaHCO <sub>3</sub>	167.97mg/ℓ
micro nutrient	Na <sub>2</sub> EDTA	4.88mg/ℓ
	MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	1.41μg/ℓ
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.2mg/ℓ
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.08mg/ℓ
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.13mg/ℓ
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.13mg/ℓ
	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.04mg/ℓ

Table 3. Nutrient composition used in main experiment

Component	Concentration(mg/ℓ)
starch	300
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	102.9
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	41.4
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	250
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	15.47
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	4.06
NaHCO <sub>3</sub>	167.97
Na <sub>2</sub> EDTA	4.88
MnSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	1.41 × 10 <sup>3</sup>
ZNSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.2
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.08
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.13 × 10 <sup>3</sup>
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.13
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.04

을 pH 7.0, 수온 25℃, 교반속도 15rpm, 수표면 조도 3000 Lux의 조건에서 회분식으로 배양하였으며 배양기 A는 자동 시간 조절기를 작동하여 12시간 간격으로 광이 조사되도록 하였고 배양기 B에는 24시간 계속 조사하여 운전하였다. 배양액은 매일,

일정한 시간에 sampling 되었으며 sampling water 는 U.S. standard method의 spectrophotometric method, pH meter method와 DO meter method (Azide modification)에 의해 Chlorophyll a, pH, DO 항목으로 분석, 측정되었다.

### V. 결과 및 고찰

두 배양조에서의 조류 성장(algal growth)과 산소 생성(oxygen generation) 특성이 다음의 Fig. 2 와 같이 나타났다.

#### 1. 조류 성장 특성

배양조에서 발색현상이 강하게 나타났는 바 두 배양조에서의 발색이 배양 3, 4일(:순응기) 후 부터 나타났으며 12시간 조사-배양조에서는 회, 검정 색으로부터 점차 청색으로 변화하였으며 24시간 조사-배양조에서는 연녹색으로부터 점차 진녹색으로 변화하였다. 특히, 12시간 조사 배양조에서는 전분의 응고현상으로 인하여 점성도가 높은 액상 고형물질이 출현하였고 배양 후반기에는 악취가 풍겨나왔다. 그럼에도 불구하고 chlorophyll-a의 농도는 꾸준히 증가하였는데 배양 9일째에 41.48 Chl.-a  $\mu\text{g/l}$ 을 나타내었다. 두 배양조 모두 pH는 배양내내 중성을 유지하였고 24시간 조사-배양조

에서 배양 9일째에 1403.97 Chl.-a  $\mu\text{g/l}$ 을 나타내었는 바 24시간 조사-배양조의 것이 12시간 조사-배양조의 것보다 약 34배의 algal biomass 생산력을 나타내었다. 두 배양조의 조류 성장을 조류 세포체의 영양염류 섭취를 통한 biochemical 1st order reaction으로 볼 경우, 조류 성장을 다음의 Michaelis-Menten식으로 나타낼 수 있다.

$$X_t = K \cdot S \cdot S_m \cdot t \text{ -----(1)}$$

X<sub>t</sub> : t일 후의 Chl.-a 농도,  $\mu\text{g/l}$

K : 비 Chl.-a 증식속도,  $\ell/\text{mg} \cdot \text{day}$

S : 배양조로 유입되는 N 혹은 P 농도,  $\text{mg/l}$

S<sub>m</sub> : 생화학 반응동안 N 혹은 P 농도,  $\text{mg/l}$

t : 배양시간, day

본 배양조에서의 N/P 물비가 16 이하로서 조류 성장이 N에 의해 지배되고 있으므로 윗 식에서의 K 값은 각각, 12시간 조사 :  $8.38 \times 10^{-5} \ell/\text{mg} \cdot \text{day}$  와 24시간 조사 :  $4.58 \times 10^{-3} \ell/\text{mg} \cdot \text{day}$ 의 값을 나타낸다. 이는 24시간 조사의 것이 12시간 조사의 것보다 약 55배의 비 Chl.-a 증식속도를 갖고있음을 나타낸다.

두 배양조에서의 조류 배양결과를 다음의 Kuo 식<sup>18)</sup>,

$$\mu = 2(S_{ae} - S_{a0}) / (S_{ae} + S_{a0})$$

$\mu$  : 비 조류 성장률

S<sub>ae</sub> : 현재 Chl.-a 농도,  $\mu\text{g/l}$

S<sub>a0</sub> : 24시간후의 Chl.-a 농도,  $\mu\text{g/l}$

을 통하여 구하여진 매일의  $\mu$  값을 다음 식,

$$k = (1/t) \cdot \mu$$

k : 평균 비 조류 성장률,  $\text{day}^{-1}$

t : 반응일, day

에 대입하여 구하면

24 시간-조사 배양조 : 0.43/day

12 시간-조사 배양조 : 0.19/day

로 나타나는데 이는 매일의 조류 성장력을 일일 정산으로 나타낼 경우에 24 시간-조사 배양조의 평균 비 Chl.-a 성장속도가 12 시간-조사 배양조의 것보다 약 2.26배 정도됨을 의미한다.

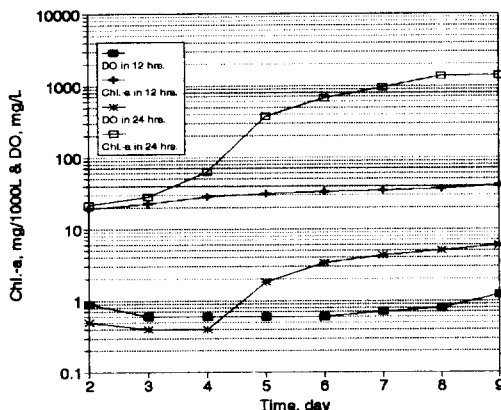


Fig. 2. Trend of algal growth and O<sub>2</sub> generation in irradiation period

## 2. 산소 생성 특성

순용기 이후 두 반응조에서의 DO 농도는 꾸준히 증가하고 있었다. 12시간 조사 배양조의 경우 조류 성장이 maximum 41.48 Chl.-a  $\mu\text{g}/\ell$ 을 나타낸 상태에서 최대 1.2 mg DO/ $\ell$ 를 나타내었으며 24시간 조사 배양조의 경우 maximum 1403.97 Chl.-a  $\mu\text{g}/\ell$ 을 나타낸 상태에서 최대 5.8mg DO/ $\ell$ 를 나타내었는 바 일일 평균 산소 생산율이 각각, 12시간 조사: 0.0857142 mg DO/ $\ell \cdot \text{day}$ , 24시간 조사: 0.7714285 mg DO/ $\ell \cdot \text{day}$ 로 나타났다. 이는 24시간 조사의 것이 12시간 조사의 것보다 약 9배 정도 산소 생성력을 갖고 있음을 의미한다.

## VI. 결 론

그 동안 국내외에서 조류 생세포 배양 시스템 (algal mass culture system)에 대하여 이제까지 고려된 제반 연구결과들이 하나의 체계를 이루도록 제작된 고율 조류 생체 배양지(HRABCP)를 이용하여 광 생물 반응이론에 근거한 12시간 조사와 24시간 조사 조건에서의 조류 배양에 대한 문헌 조사와 실험의 결과로부터 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 연속조사와 주기 조사에 있어서 광합성의 암반응과 광저해 반응이 조류 생산력에 가장 크게 영향을 미친다.
2. Michaelis-Menten 공식으로 조류 성장력을 나타낼 경우 24시간 조사의 것이 12시간 조사의 것보다 약 55배의 비 Chl.-a 증식속도를 갖고 있다.
3. Kuo 공식으로 조류 성장력을 나타낼 경우 24시간 조사의 것이 12시간 조사의 것보다 약 2.26 배의 비 Ch.-a 성장속도를 갖고 있다.
4. 24시간 조사 반응조의 조류 생산과 산소생산이 1403.97  $\mu\text{g Chl.-a/L}$ 과 5.8 mg/L에 이르고 특히, 이 산소 생산능력은 어류 생존에 적합한 산소농도가 된다.
5. 24시간 조사 반응조에서의 자연적 조류 침강현상은 HRABCP가 조류침강에 효과적으로 사용될 수 있음을 나타낸다.

## 참 고 문 헌

1. 공석기 : 조류를 이용한 폐수처리 방안, 열린 충남, 충남발전연구원, 4(1), 70-81, 1997.
2. 공석기 : 빛의 조사시간으로 본 호기성 고율 안정조 프로세스의 영양물질 제거, 대한 위생학회지, 11(1), 70-81, 1997.
3. Bahlaoui, A. and Picot, B. and Moersidik, S. and Baleux, B. and Bontoux J. : Comparison of the purifying efficiency of high rate algal pond with stabilization pond, Wat. Sci. Tech., 25(12), 197-206, 1992.
4. Volesky, B. : Biosorption of Heavy Metals, CRC press, Quebec, Canada, 1989.
5. Soeder, C. : The use of microalgae in nutrition, J. Naturwissenschaften, 63, 131-138, 1976.
6. Shelef, G. and Moraine, R. and Berner, T. and Levi, A. and Oron, G. : Solar energy conversion via algal wastewater treatment and protein production, Proceeding of Fourth Int'l. Conf. Photosynthesis in The Biochemical Society Meeting, London, 657-675, 1978.
7. Goldman, J. C. and Ryther, J. H. : Nutrient transformations in mass cultures of marine algae, J. Environ. Engng. Div. Am. Soc. civ. Engrs., 101, EE3, 351-364, 1975.
8. Oswald, W., Current status of microalgae from wastes, Chem. Engng. Prog. Symp. Ser., 65, 87-92, 1969.
9. Toshiuki, N. and Masahiro, T : A photobioreactor using algal phototaxis for solids-liquids separation, J. Wat. Res., 25(10), 1243-1247, 1991.
10. Qingliang, Z. and Zizie, Z. : Temperature influence on performance of oxidation pond, J. Wat. Sci. Tech., 24(5), 85-96, 1991.
11. Carberry, J. : Options for the rational design and operation of oxidation ponds, J. Wat. Sci. Tech., 24(5), 21-32, 1991.

12. Vladimir, Z. and Dmitri, Z. : Tertiary treatment of wastewater in biological ponds, *J. Wat. Sci. Tech.*, 24(5), 41-46, 1991.
13. 고광백 등 : Metcalf and Eddy 폐수처리공학, 동화기술, 서울, 대한민국. 1995.
14. 김병홍 : 미생물 생리학, 동화기술, 서울, 대한민국, 1995.
15. 이장훈 : 실험 환경미생물, 동화기술, 서울, 대한민국. 1995.
16. Steren C. Chapra : Engineering approaches for lake management, New York, USA, 270, 1995.
17. Drews G. : Structure and functional organization of light harvesting complexes and photochemical reaction centers in membrane of photosynthesis bacteria, *Microbiol.*, 49, 59-70, 1985.
18. Kuo, Feng-Tseng and Ju, Sheng Hwang and I. Chiu Liao : Species control of microalgae in an aquaculture pond, *Water Research*, 25(1), 1431-1437, 1991.