

광배양 시스템에서 NO_x 및 SO_x의 배지 pH와 미세조류 생장에 미치는 영향

윤세영¹ · 홍민익² · 심상준^{1†}

¹고려대학교 화공생명공학과, ²성균관대학교 화학공학과

Effects of NO_x and SO_x on the Medium pH and microalgal growth in photo-culture system

SE YOUNG YOON¹, MIN EUI HONG², SANG JUN SIM^{1†}

¹Department of Chemical and Biological Engineering, Korea Univ. Seoul, 136-718, Republic of Korea

²Department of Chemical Engineering, Sungkyunkwan Univ. Suwon-Si, 440-746, Republic of Korea

Abstract >> Carbon dioxide reduction technologies using photosynthetic microorganism were suggested to overcome environmental destruction caused by CO₂ in flue gases from power plant and other industries. However, there are many toxic constituents in flue gas including CO, NO_x, SO_x. Continuous and Excessive supply of these noxious gases to cells will leads to inhibition of microalgal growth along with partial cell death. In this study, we tested the noxious effect of SO_x and NO_x on the pH and microalgal growth under photoautotrophic culture in three microalgae of *Neochloris oleoabundans*, *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis*. As a result, SO_x concentration more than 50 ppm led to the rapid reduction of pH, thereby inhibiting of the growth in *Neochloris oleoabundans* and *Chlorella vulgaris*. NO_x concentration more the 100 ppm reduced the exponential growth of *N. oleoabundans* and *C. vulgaris*. And *H. pluvialis* exhibited low sensitivity to SO_x and NO_x. Consequently, the three microalgae of *N. oleoabundans*, *C. vulgaris* and *H. pluvialis* showed the normal vegetative growth in 25 ppm of NO_x and SO_x. Above all, *H. pluvialis* was useful for the CO₂ sequestration of the flue gas including high concentrations of NO_x and SO_x.

Key words : Carbon dioxide(이산화탄소), photosynthesis(광합성), *Neochloris oleoabundans*(네오클로리스 올레오아분단스), *Chlorella vulgaris*(클로렐라 불가리스), *Haematococcus pluvialis*(헤마토코쿠스 플루비알리스), flue gase(배가스), SO_x and NO_x (황산화물과 질산화물)

1. 서 론

과학의 비약적인 발전에 발맞추어 에너지의 수요는 급증하였으며 앞으로도 더욱 에너지의 수요 증가는

불가피한 실정이다. 그러나 발전소 및 기타 산업 현장에서 대량 배출되는 배가스에는 많은 양의 이산화탄소가 함유되어 있으며 에너지 수요와 비례하여 대기 중 이산화탄소 농도가 급증하고 있는 상황이다. 이산화탄소는 대표적인 온실가스로써, 지구온난화를 가속화시켜 생태계를 교란시키고, 이로 인한 재해의 증가로 인해 과학적 진보와 환경파괴 사이에서 큰

[†]Corresponding author : simsj@korea.ac.kr

[접수일 : 2013.6.24 수정일 : 2013.6.28 게재확정일 : 2013.6.30]

Copyright © 2013 KHNES

딜레마를 야기한다.

이를 극복하기 위한 기술적 방안으로서 화학적 반응을 통해 이산화탄소를 회수하여 지하에 저장하는 화학적 이산화탄소 저감법이 개발되었다. 그러나 화학적 이산화탄소 저감법은 많은 비용이 소요된다. 이에 반해, 광합성을 통해 이산화탄소를 체내에 고정시켜 저감시키는 생물학적 이산화탄소 저감법은 환경 친화적이며, 이산화탄소 고정을 통해 얻어지는 부산물은 의약, 식품, 화장품 등 다양한 분야에 응용되는 장점을 가지고 있다¹⁾. 그러나 생물학적 이산화탄소 저감법에 사용되는 식물은 낮은 성장률과 낮은 광합성 효율이라는 한계를 가진다. 이러한 한계를 극복하기 위해 광합성 효율이 높고, 성장이 빠르며 이산화탄소 고정에서 사용이 용이한 생물로 미세조류를 이용한 공정이 전 세계적으로 각광받고 있다.

*Haematococcus pluvialis*는 두 가닥의 편모를 가지고 있는 10-100 μm 크기의 단세포 녹조류이다. 어린 세포에서는 편모를 통해 운동성을 가지나, 성숙하면서 편모가 없어지고 운동성을 잃게 된다. 정상 성장상태에서 *H. pluvialis*는 단백질이 풍부하고, 10% 이하의 지질을 함유하고 있다²⁾. 이때의 지질 조성은 비교적 짧은 C16, C18의 다중 불포화지방산을 함유하고 있다. 질소결핍, 강한 빛 자극 등을 포함한 스트레스 조건의 환경에서, *H. pluvialis*는 최대 50%까지 녹말을 축적하고, 그 후 세포질의 oil globule에 세포 중량의 40%에 달하는 triacylglycerol(TAG)와 세포 중량의 4%의 아스타잔틴(ketocarotenoid astaxanthin)을 축적하는 특징이 있다³⁾.

*Neochloris oleoabundans*는 질소 결핍 환경 내에서 세포 내에 최대 40%까지 total lipid를 축적하며⁴⁾, 특히 TAG함량이 많고, 0.133 kg/m³/day의 lipid 생산성을 가지고 있어 대표적인 바이오디젤 생산 균주로 널리 사용되고 있는 미세조류이다⁵⁾. 3-5 μm 크기로 미세조류 중에서 비교적 작은 크기를 지닌다.

*Chlorella vulgaris*는 2-10 μm 로 *N. oleoabundans*와 비슷한 크기를 가지며, 편모가 없고 원형이다. *C. vulgaris*는 45% 이상의 단백질과 20%의 지질, 20%

탄화수소 등 필수 영양소를 다량 함유하고 있어 식품 재료로 사용되고 있다. 또한 항암효과 및 면역 증진에 효능이 알려져 건강식품으로도 널리 사용되고 있다⁶⁻¹⁵⁾.

미세조류를 이용한 이산화탄소의 생물학적 저감을 효율적으로 달성하기 위해서는, 미세조류의 광배양에 있어 세포에 의한 고효율의 광합성을 유지하면서 고농도 배양이 요구된다. 그리고, 이 때, 공급되는 가스 내에 이산화탄소는 세포의 광합성을 위한 탄소 원으로 사용되므로 이산화탄소의 농도는 미세조류 성장에 중요한 요인이다.

그러나 일반적인 배가스는 주로 발전소로부터 발생하는 연소 가스로서 연소물질에 따라 가스를 구성하는 성분의 조성이 결정되지만, 대부분은 연소 대기로부터 발생한 질소이고, 나머지 가스 성분은 이산화탄소, 증기, 산소로 구성되어 있다. 이외에도 오염 입자 물질, 일산화탄소, 질소산화물, 황산화물 또한 소량 포함되어 있다¹⁶⁾. 배가스가 함유하고 있는 이러한 가스 성분들은 어느 농도 이상에서는 미세조류의 성장을 저해한다.

따라서 본 연구에서는 미세조류의 광배양에 있어 배가스에 함유된 SOx, NOx가 미세조류의 성장에 미치는 영향을 분석하고자 한다. 그리하여, 이산화탄소가 포함되어 있는 배가스를 적절하게 이용하여 미세조류를 배양함으로써 이산화탄소의 저감과 동시에 바이오에너지 및 고부가 가치의 부산물을 생산하는 효율적인 광생물 배양공정 시스템을 구축하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 균주 및 배양조건

실험에 사용된 균주는 NIES (National Institute for Environmental Studies, Japan)로부터 구매된 *Haematococcus pluvialis* (NIES-144), UTEX (University of Texas, USA)에서 구매된 *Neochloris oleoabundans* (UTEX 1185)와 *Chlorella vulgaris* (UTEX 2714)이다.

*H. pluvialis*는 세포를 1 L 플라스크에서 400mL의 NIES-C 배양액을 이용하여 배양하였으며, NIES-C 배지는 pH 7.5 조건에서 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.15g/L, KNO_3 0.10g/L, glycerophosphoric acid disodium salt pentahydrate 0.05g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04g/L, Tris- amino-methane 0.50g/L, thiamine 0.01mg/L, PIV metal solution 3.00mL/L, biotin 0.10 μg /L, vitamin B₁₂ 0.10 μg /L로 구성되었다.

*N. oleoabundans*와 *C. vulgaris*는 *H. pluvialis*와 동일 부피의 플라스크에서 TAP-C 배지를 이용하여 배양하였다. 배지는 H_2NC_3 2.42 g/L, NH_4Cl 15 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2 g/L, K_2HPO_4 2.88 g/L, KH_2PO_4 1.44 g/L, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g/L, H_3BO_3 0.114 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.016g/L, $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_3$ 0.011g/L로 구성되었다.

생장기 동안에 미세조류는 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 의 광도로 유지하여 광자가영양 조건에서 배양하였으며, 이때 온도는 22 $^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 배양액에 주입된 가스는 5% $\text{CO}_2(\text{v}/\text{v})$ 농도를 가지는 혼합공기를 주입하였다.

2.2 SOx 및 NOx 가스 농도

350mL의 배지에 대수기인 3종의 미세조류 *N. oleoabundans*, *C. vulgaris*, 그리고 *H. pluvialis*를 50 mL 접종하였다. 이에 SOx 가스가 미세조류 배양에 미치는 영향을 확인하기 위하여 5% CO_2 가스(대조군) 그리고 SOx 가스가 각각, 25ppm, 50ppm, 그리고 100ppm으로 혼합된 SOx 가스를 이용하였으며, 이때 SOx 가스 농도가 미세조류 성장에 미치는 영향을 살펴 보았다. 각 미세조류는 가스주입 시 발생하는 물리적 피해인 전단손상의 영향을 최대한 감소시키기 위하여 접종 초기 농도를 광학밀도(O.D.₆₈₀)을 이용하여 동일하게 조절하였으며, 그 외 배양 조건 역시 대조군(0ppm NOx)과 실험군에서 모두 동일하게 배양하였다.

NOx 가스가 미세조류 배양에 미치는 영향을 확인하기 위하여 5% CO_2 가스를 주입하거나(대조군), 25

ppm, 50ppm, 그리고 100ppm의 NOx 가스와 혼합하여 NOx 가스의 농도가 미세조류 성장에 미치는 영향을 살펴 보았다. 각 미세조류는 접종 초기 농도를 동일하게 조절하였으며, 그 외 배양 조건 역시 대조군(0 ppm SOx)과 실험군에서 모두 동일하게 배양하였다. 또 각 미세조류 간의 성장속도 차이를 확인하고자 광학밀도(O.D.₆₈₀) 대신에 세포 건중량을 배양의 기준점으로 나타내었다.

2.3 시료 분석방법

광배양된 미세조류 세포의 농도는 UV-vis spectrophotometer (Shimadzu, Japan) 기기를 이용하여, 파장 680nm 가시광선 범위에서 흡광법으로 측정하였다. 건조중량은 농도에 따라 배양액의 부피를 달리하여 GF/C 여과지(Whatman, UK)을 이용하여 여과하였다. 여과된 단위 부피당 세포의 중량을 측정하였다.

배지 내 pH 측정은 4일 단위로 배양액에서 5mL로 시료를 샘플링 한 후, Electrochemistry (Denver Instrument, USA) 기기를 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 SOx가 미세조류 성장에 미치는 영향

3.1.1 SOx 가스 농도에 따른 미세조류의 성장

*N. oleoabundans*는 NOx 가스를 주입 후 광배양 기간 동안 대조군과 25ppm의 SOx 에서는 큰 저해가 나타나지 않았다. 그러나 50ppm이상의 SOx에서는 배양 10일 만에 건중량이 감소하고 사멸하는 현상이 나타났다(Fig. 1-(a)). *C. vulgaris* 세포도 대조군은 배양기간 동안 건중량이 0.96g/L가 증가하였다. 그러나 50 ppm SOx 에서는 *N. oleoabundans*와 마찬가지로 배양 10일 만에 성장곡선이 꺾였으며, 사멸되었다. 뿐만 아니라, 100ppm SOx에서는 생육이 거의 나타나지 못했다(Fig. 1-(b)). 따라서 50ppm 이상의 SOx 조건에서는 *N. oleoabundans*와 *C. vulgaris*를 배양하

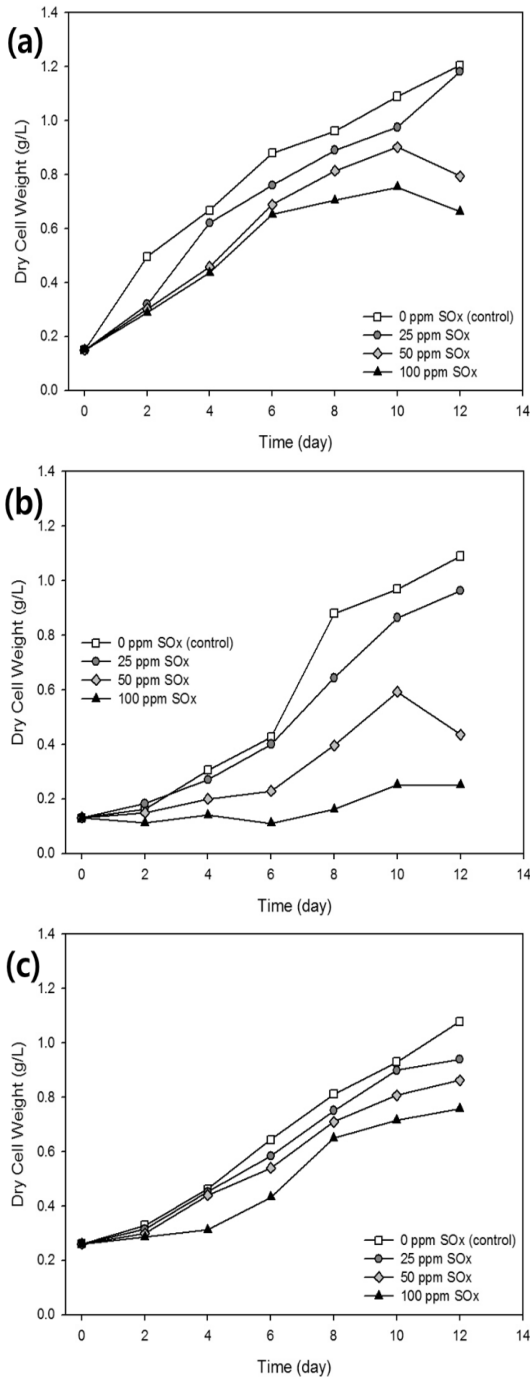


Fig. 1. Cell growth according to the SOx gas concentration (a) *N. oleoabundans* (b) *C. vulgaris* (c) *H. pluvialis*. All data were repeated at least three times

기 어려운 조건인 것으로 판단되었다.

Table 1. Effect of SOx on the growth in three microalgae of *N. oleoabundans*, *C. vulgaris*, *H. pluvialis*

	0ppm	50ppm	100ppm
<i>N. oleoabundans</i> (g/L/d)	0.092	0.054	0.046
<i>C. vulgaris</i> (g/L/d)	0.088	0.027	0.009
<i>H. pluvialis</i> (g/L/d)	0.075	0.052	0.044

*N. oleoabundans*와 *C. vulgaris*는 소형 단세포 미세조류에 속하며 환경요인에 영향을 많이 받는다. 그러나 *H. pluvialis*는 단일세포의 크기가 10-100 μ m이며 중대형의 미세조류라는 특징이 있다. Fig. 1-(c)를 통해, *H. pluvialis*는 100ppm SOx에 대해서도 완전한 생장이 나타났음을 확인하였다. 따라서 *H. pluvialis*는 상대적으로 다른 미세조류에 비해 SOx의 영향을 적게 받는 미세조류 인 것으로 나타났다. (Table 1)

SOx는 일반적으로 세포 내에서 활성산소 superoxide (O₂⁻)를 발생시키는 것으로 밝혀져 있다. 따라서 50 ppm 이상의 SOx 농도에서 세포 성장률이 감소한 것을 세포 내 활성 산소의 발생으로 인한 스트레스의 증가에 의한 결과로 볼 수 있다.

또한 특정 농도 이상의 SOx는 SOD(superoxide dismutase) 활성을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 계속되는 SOx와의 접촉으로 인해 발생하는 O₂⁻를 SOD에 의하여 H₂O₂(hydrogen peroxide)로 전환시키고, 이 활성산소 분자는 Catalase에 의하여 H₂O로 전환시켜 산화 스트레스를 억제하게 되는데, 50ppm 이상의 SOx 공급조건에서는 SOD의 활성 감소로 세포 내 O₂⁻의 지속적인 축적으로 인하여 세포사멸로 인한 세포 농도 감소 현상이 나타나는 것으로 판단되었다.

H. pluvialis 세포의 경우, 100ppm 의 SOx를 공급하였을 경우, 4일 째 동안 생육이 정체되다가 4일을 기점으로 세포농도가 급격히 증가하는 것을 볼 수 있는데, 이러한 현상도 세포 내 활성산소의 증가로 인하여 지수성장(vegetative growth)이 억제되고, 단위 세포 당 질량이 증가하는 유도성장(Inductive growth)

이 증가하였기 때문인 것으로 나타났다.

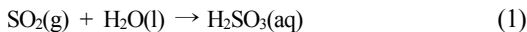
3.1.2 SOx 가스 농도에 따른 pH 변화

배양기간 동안 SOx 가스의 주입으로 인해 농도에 따라 생육이 가능, 또는 저해되는 것을 위 실험결과를 통해 알 수 있었다. 이에 따라 배양기간 동안 SOx 가스의 주입 농도가 배지환경 내에 미친 pH의 영향을 살펴보고자 하였다.

Fig. 2.에서와 같이 *N. oleoabundans*는 대조군에서 pH가 6.3까지 감소한 반면에 SOx가스 주입 군에서는 pH가 모두 pH4 이하까지 감소하였다. 그럼에도 불구하고, 25ppm 의 SOx 주입군은 배양기간 12동안 배양이 가능한 것으로 나타났다(Fig. 2-(a)). 반면, *C. vulgaris*에서는 주입 SOx 농도에 따라서 pH 변화가 고르게 나타났으며 특히, 25ppm의 SOx 에서도 pH가 5.1까지 감소하였음에도 배양이 가능한 것으로 나타났다. 그러나 pH가 3.0과 2.9까지 떨어진 50ppm과 100ppm에서는 생장이 저해되었다(Fig. 2-(b)).

또 *H. pluvialis*에서는 50-100ppm SOx 에서 다른 균주의 실험군과 마찬가지로 pH의 변화가 심했다. 그러나 25ppm SOx에서 pH 변화가 매우 적게 나타났다. 이것은 *H. pluvialis* 배양에 이용되는 NIES배지의 버퍼로 인해 TAP 배지에서 배양되는 *N. oleoabundans*나 *C. vulgaris* 와 달리, 25ppm까지는 완충작용이 나타난 것으로 보였다(Fig. 2-(c)).

SOx 가스는 물에 대하여 용해도가 매우 크다. 특히, SO₂는 0°C에서 100g H₂O 당 최대 22.971g이 용해될 수 있다.



따라서 NOx 가스에 비하여, SOx를 주입한 배양에서는 pH가 큰 폭으로 감소하였으며, 배양에서도 NOx보다 더 유독한 것으로 나타났다.

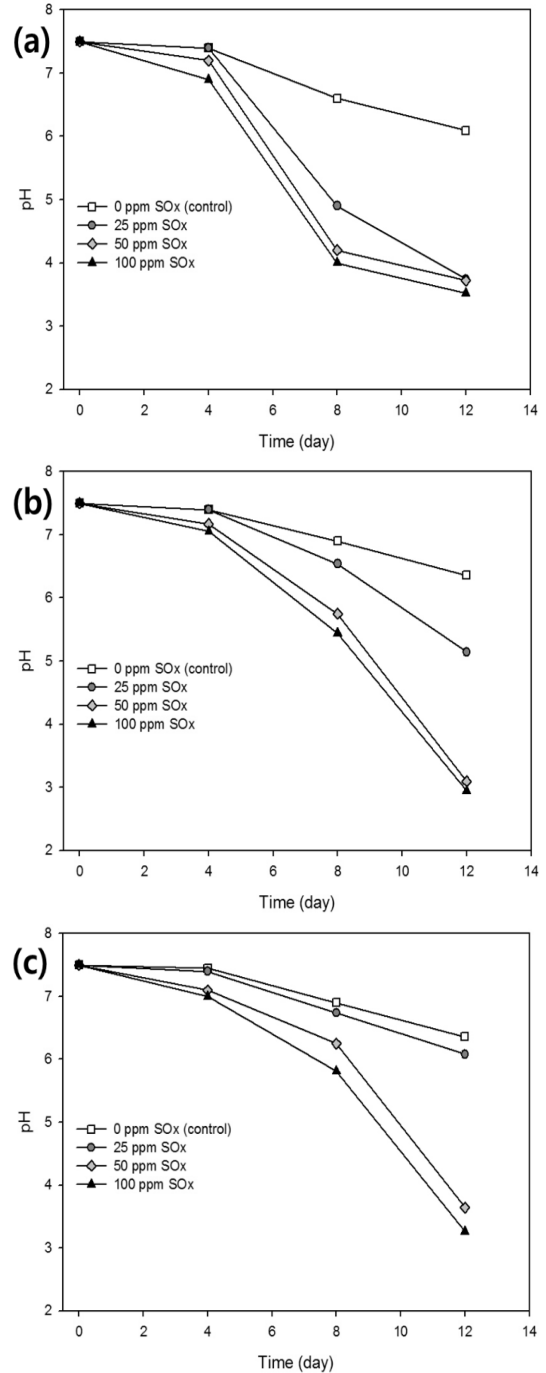


Fig. 2 pH changes within microalgae medium according to the SOx gas concentration (a) *N. oleoabundans* (b) *C. vulgaris* (c) *H. pluvialis*. All data were repeated at least three times

3.2 NOx가 미세조류 성장에 미치는 영향

3.2.1 NOx 가스 농도에 따른 미세조류의 성장

*N. oleoabundans*는 NOx 가스를 주입한 후 광배양 기간 동안 각 미세조류 별 대조군은 완만한 성장곡선을 보였으나 50ppm과 100ppm NOx 실험군에서는 성장에 저해가 나타났다(Fig. 1-(a)).

C. vulgaris 세포는 대조군에서 전체 배양기간 동안 건중량이 1.11g/L 증가한 반면, 100ppm NOx에서는 배양기간 동안 건중량이 0.16g/L 증가하여 전체적으로는 성장의 증가가 거의 나타나지 않았다. 따라서 100 ppm NOx에서는 배양에 상당한 저해를 받으므로 배양에 적용하기 어려운 것으로 나타났다(Fig. 1-(b)). 다른 문헌에서도 미세조류 *C. vulgaris*는 100ppm 이하의 NOx 가스 조건에서 배양 할 수 있는 것으로 조사되었다¹⁷⁾.

50 - 100ppm NOx 실험군은 *C. vulgaris* 중에서 NOx 에 의한 세포성장 저해 정도가 가장 높게 나타난 것과 비교했을 때, *N. oleoabundans* 또는 *H. pluvialis*는 100ppm NOx에서도 완만한 성장곡선이 나타났으므로 NOx가스에 대해서는 영향을 상대적으로 적게 받는 것으로 나타났다(Fig. 3-(c), (Table 2)).

NOx의 경우 SOx에 비하여 세포 생육 저해 영향은 상대적으로 낮은 것을 확인할 수 있는데, 이러한 현상은 NOx는 Nitrate로 전환되어 세포 생육의 질소 영양성분으로 사용될 수 있기 때문으로 파악되었다.

NOx의 주성분은 Nitric oxide(NO)와 Nitrogen dioxide(NO₂)이며, 두 분자의 Nitrogen dioxide는 한 분자의 물(H₂O)과 결합하여 한 분자의 Nitrate 가 생성된다. 보다 자세한 Nitrate 생성기작은 아래 3.2.2의 (3), (4), (5), (6)과 같다.

50ppm NOx의 공급조건 역시 세포 생장률이 감소하였는데, 이러한 현상의 원인으로는 SOx와 마찬가지로 특정 농도 이상의 NOx는 SOD(superoxide dismutase) 활성을 감소시키기 때문인 것으로 판단된다. 지속적인 SOD 활성의 감소로 인한 세포 내 O₂의 지속적인 축적은 세포의 정상적인 지수성장능력을 억제 시키

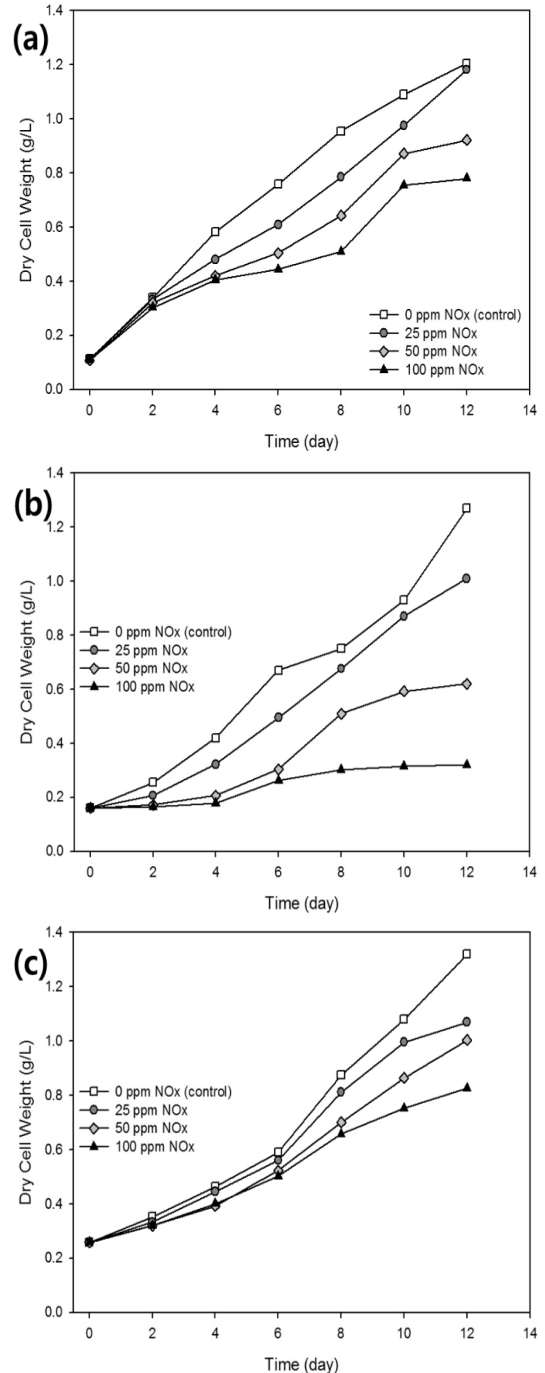


Fig. 3 Cell growth according to the NOx gas concentration (a) *N. oleoabundans* (b) *C. vulgaris* (c) *H. pluvialis*. All data were repeated at least three times

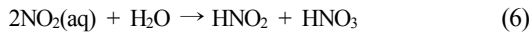
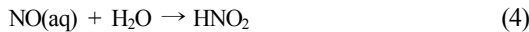
고, 이것은 결과적으로 세포 농도의 감소로 이어졌다.

Table 2. Effect of NOx on the growth in three microalgae of *N. oleoabundans*, *C. vulgaris*, *H. pluvialis*

	0ppm	50ppm	100ppm
<i>N. oleoabundans</i> (g/L/d)	0.092	0.061	0.053
<i>C. vulgaris</i> (g/L/d)	0.1	0.042	0.013
<i>H. pluvialis</i> (g/L/d)	0.093	0.063	0.050

3.2.2 NOx 가스 농도에 따른 pH 변화

위의 실험을 통해서, 미세조류는 50ppm 이상 농도의 NOx에서 미세조류의 성장을 저해하는 것으로 나타났다. 이것은 NOx 가스가 배지에서 다음과 같은 화학반응을 통하여 배지 내로 이온화되어 용해되면서 배지가 산성화되었기 때문인 것으로 판단되었다¹⁸⁾.



따라서 NOx 농도에 따른 배지 내 pH 변화를 통해 배양에 미친 NOx 가스의 저해를 파악하고자 연구를 진행하였다.

배양기간 동안 주입한 NOx의 농도에 따라 배지의 pH 변화가 크게 나타났다. 또 미세조류의 균주에 따라서도 pH의 변화가 다르게 나타났다. Fig. 4의 (a)에서와 같이 *N. oleoabundans*는 SOx 에서와 달리, pH 변화가 크지 않았으며, 100ppm NOx에서도 pH는 약 산성(pH = 6.3)을 나타내었다.

Fig. 4의 (b)와 (c)에서는 NOx 농도에 따라서 균일하게 pH 차이가 발생하였다. 그러나 SOx 가스의 주입과 다르게 대조군의 pH 변화폭은 7.5에서 6.65로 나타났다 이와 같은 변화는 배양에 이용되는 가스 성분 중 5%의 이산화탄소에 기인하는 것으로 보인다.

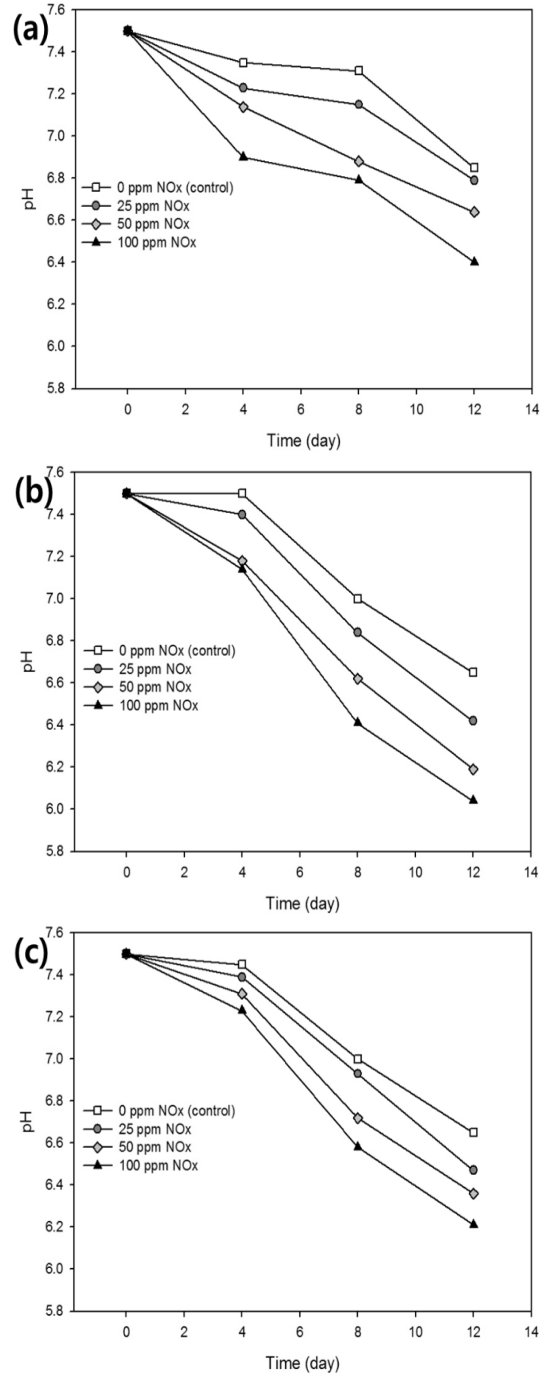
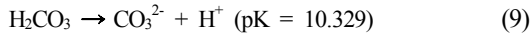
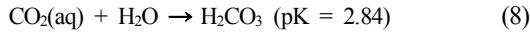
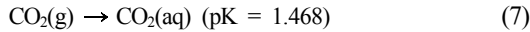


Fig. 4 pH changes within microalgae medium according to the SOx gas concentration (a) *N. oleoabundans* (b) *C. vulgaris* (c) *H. pluvialis*. All data were repeated at least three times

pH 8이하의 환경에서는 수산화 경로는 다음과 같다¹⁹⁾.



따라서 pH 보정없이 배양을 진행하였을 때, 이산화탄소가 용해되면서 pH는 약 6.5-6.6정도로 감소하였다.

4. 결 론

- 1) *N. oleoabundans*와 *C. vulgaris*는 50ppm 이상의 SOx 또는 100ppm 이상의 NOx 조건에서 저해를 받는 것으로 나타났다.
- 2) *H. pluvialis*는 *N. oleoabundans*와 *C. vulgaris*에 비해 SOx 또는 NOx 조건에서 덜 민감하게 반응하였다.

후 기

본 연구는 한국에너지기술평가원 (Korea Institute of Science & Technology Evaluation and Planning)의 학술연구비(2012T100201516)와 Korea CCS R&D center의 학술연구비(2011-0031997)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Reference

1. Margalith, P. Z., "Production of Ketocarotenoids by Microalgae", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 51, 1999, p. 431-438.
2. Boussiba S, and Fan L, Vonshak A., "Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green alga *Haematococcus pluvialis*", *Methods Enzymol*, vol. 213, 1992, p. 386-391.
3. Yuan, J. P., Gong, X. D., and Chen, F. "Separation and analysis of carotenoids and chlorophylls in *Haematococcus lacustris* by high-performance liquid chromatography photodiode array detection", *J. Agric. Food Chem.* vol. 45, 1997, p. 1952-1956.
4. Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., and Lan, C. Q. "Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*", *Appl. Microbiol. Biot.* vol. 81, 2008, p. 629-636.
5. Tornabene, T. G., Holzer, G., Lien, S., and Burros, N. "Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans*", *Enzyme Microb. Tech.* vol. 5, 1983, p. 435-440.
6. Justo, G. Z., Silva, M. R., and Queiroz, M. L. S. "Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal Ehrlich ascites tumor transplantation in mice", *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* vol. 23, 2001, p. 119-132.
7. Konishi F., Tanaka K., Himeno K., Taniguchi K., and Nomoto K. "Antitumor effect induced by a hot water extract of *Chlorella vulgaris* (CE): resistance to Meth-A tumor growth mediated by CE-induced polymorphonuclear leukocytes", *Cancer Immunol. Immunother.* vol. 19, 1985, p. 73-78.
8. Konishi F., Tanaka H., Kumamoto S., Hasegawa T., Okuda M., Yano I., Yoshikai Y., and Nomoto K. "Enhanced resistance against *Escherichia coli* infection by subcutaneous administration of the hot-water extract of *Chlorella vulgaris* in cyclophosphamide-treated mice", *Cancer Immunol. Immunother.* vol. 32, 1990, p. 1-7.
9. Konishi F., Mitsuyama M., Okuda M., Tanaka K., Hasegawa, T., and Nomoto K. "Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* against myelosuppression by 5-fluorouracil", *Cancer Immunol. Immunother.* vol. 42, 1996, p. 268-274.
10. Morimoto T., Nagatsu A., Murakami N., Sakakibara J., Tokuda H., Nishino H., and Iwashima A.

- “Anti-tumour-promoting glyceroglycolipids from the green alga *Chlorella vulgaris*, *Phytochemistry*”, vol. 40, 1995, p. 1433-1437.
11. Noda K., Ohno N., Tanaka K., Kamiya N., Okuda M., Yadomae T., Nomoto K., and Shoyama Y. “A water-soluble antitumor glycoprotein from *Chlorella vulgaris*”, *Planta Med.* vol. 62, 1996, p. 423-426.
 12. Singh A., Singh S.P., and Bamezai R. “Perinatal influence of *Chlorella vulgaris* (E-25) on hepatic drug metabolizing enzymes and lipid peroxidation”, *Anticancer Res.* vol. 18, 1998, p. 1509-1514.
 13. Tanaka K., Konishi F., Himeno K., Taniguchi K., and Nomoto K. “Augmentation of antitumor resistance by a strain of unicellular green algae *Chlorella vulgaris*”, *Cancer Immunol. Immunother.* vol. 17, 1984, p. 90-94.
 14. Tanaka K., Koga T., Konishi F., Nakamura M., Mitsuyama M., Himeno K., and Nomoto K. “Augmentation of host defense by a unicellular green alga, *Chlorella vulgaris*, to *Escherichia coli* infection”, *Infect. Immun.* vol. 53, 1986, p. 267-271.
 15. Yasukawa K., Akihisa T., Kanno H., Kaminaga T., Izumida M., Sakoh T., Tamura T., and Takido M. “Inhibitory effects of sterols isolated from *Chlorella vulgaris* on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and tumor promotion in mouse skin”, *Biol. Pharm. Bull.* vol. 19, 1996, p. 573-576.
 16. Grung, M., D’Souza, F. M. L., Borowitzka, M., and Liaaen-Jensen, S. “Algal carotenoids 51. Secondary carotenoids 2. *Haematococcus phuvialis* aplanospores as a source of (3S,3’S)-astaxanthin esters:”, *J. Appl. Phycol.* vol. 4, 1992, p. 165-171.
 17. Man Kee Lam, Keat Teong Lee, Abdul Rahman Mohamed. “Current status and challenges on microalgae-based carbon capture”, *International J. of Greenhouse Gas Control* vol. 10, 2012, p. 456-469.
 18. Sofie Van Den Hende, Han Vervaeren, Nico Boon. “Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities”, *Biotechnology Advances* vol. 30, 2012, p. 1405-1424.
 19. Dreybrodt W, Lauckner J, Ziahua L, Svensson U, Buhmann D. “The kinetics of the reaction $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ — as one of the rate limiting steps for the dissolution of calcite in the system $\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{CaCO}_3$ ”, *Geochim Cosmochim. Acta.* vol. 60, 1996, p. 3375-81.