

미세조류의 이산화탄소 고정화에 미치는 이산화탄소 농도의 영향

윤영상 · 박종문[†] · Bohumil Volesky*

포항공과대학교 환경공학부 화학공학과

*McGill대학교 화학공학과

(1999년 3월 10일 접수, 1999년 5월 7일 채택)

Dependence of Carbon Dioxide Concentration on Microalgal Carbon Dioxide Fixation

Yeoung-Sang Yun, Jong Moon Park[†] and Bohumil Volesky*

Department of Chemical Engineering, School of Environmental Engineering,
Pohang University of Science and Technology, Pohang 790-784, Korea

*Department of Chemical Engineering, McGill University, 3610 University Street,
Montreal, Quebec, Canada H3A 2B2

(Received 10 March 1999; accepted 7 May 1999)

요 약

본 연구에서는 미세조류의 광합성능력을 이용하여 이산화탄소를 고정화하고자 할 때 문제점의 하나로 여겨지고 있는 고농도 이산화탄소에 대한 저해현상을 구체적으로 살펴보고자 하였다. 특히 이산화탄소의 전달계수를 구하여 미세조류가 성장하고 있는 동안 배지 내에서 용존 이산화탄소 농도의 변화를 정량적으로 이해하고자 하였으며, 용존 이산화탄소의 농도에 따른 고정화속도의 변화를 수식적으로 표현하였다. 먼저 공급되는 기체 중의 이산화탄소 부분압이 0.035%(v/v)일 경우 조류의 성장은 이산화탄소의 전달에 의하여 제한되었으며, 2%(v/v)이상에서는 제한현상은 극복될 수 있었고 용존 이산화탄소는 평형농도 부근에서 유지되었다. 그러나 혼합기체의 이산화탄소 부분압이 10%(v/v) 이상일 경우에는 용존 이산화탄소에 의하여 저해현상이 발견되었다. 이러한 저해현상을 정량적으로 기술하기 위하여 고정화속도를 용존 이산화탄소의 함수로 하는 경험식을 도입하였으며 이는 광생물반응기의 운전조건에 독립적인 것으로 폭넓은 활용이 가능할 것이다. 또한 고농도 이산화탄소에 의한 저해현상은 가역적임을 실험적으로 입증하였으며 이는 생물학적 이산화탄소 고정화 공정이 단기적인 고농도 이산화탄소에 의한 충격에 유연함을 보여주고 있다. 따라서 본 연구의 결과는 이산화탄소의 전달현상 및 농도에 따른 활성저해 현상을 이해하고 이를 수학적으로 기술함으로써 향후 광생물반응을 모델링하고 운전 변수를 최적화하는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

Abstract - Batch cultivation of *Chlorella vulgaris* was carried out under various CO₂ concentrations in order to understand and describe mathematically the CO₂ inhibition of microalgal CO₂ fixation. The volumetric CO₂ transfer coefficient from mixture gas to culture medium was estimated from the volumetric O₂ transfer coefficient obtained experimentally. Using this transfer coefficient and aquatic equilibrium relationship between dissolved inorganic carbons, the behavior of dissolved CO₂ was calculated during microalgal culture. When air containing 0.035%(v/v) CO₂ was supplied into microalgal culture, the fixation rate was limited by CO₂ transfer rate. However, the limitation was disappeared by supplying mixture gas containing above 2%(v/v) CO₂ and the dissolved CO₂ concentration was maintained at the saturated value. In the range of CO₂ partial pressure in the flue gases from thermal power stations and steel-making plants, the microalgal CO₂ fixation rate was inhibited. The CO₂ fixation rate was successfully formulated by a new empirical equation as a function of dissolved CO₂ concentration, which could be useful for modeling and simulating the performance of photobioreaction with enriched CO₂. Also, it was found that the CO₂ inhibition of microalgal CO₂ fixation was reversible and that microalgal CO₂ fixation process could be stable against a shock of unusually high CO₂ concentration.

Key words: Biological Carbon Dioxide Fixation, Carbon Dioxide Concentration, Microalgal Culture, Carbon Dioxide Transfer Rate, Microalgal Growth Kinetics

1. 서 론

최근 들어 전 지구적 환경문제로 대두되고 있는 지구온난화 현상은

[†]E-mail : jmpark@postech.ac.kr

대기 중에 이산화탄소를 비롯한 온실가스가 축적되면서 지구로부터 방출되는 적외선을 흡수하기 때문인 것으로 알려져 있다[1]. 이에 대처하기 위하여 국제적으로 탄소세 및 탄소방출권 매매 등 각종 제도의 도입이 추진되고 있으므로 에너지 다소비산업이 많은 우리 나

라의 경우는 그 대책이 시급하다고 할 수 있다. 대표적인 온실가스인 이산화탄소를 처리하는 기술은 크게 압력연동 흡착법이나 막분리법과 같이 배가스 중의 이산화탄소를 분리하는 기술과 이산화탄소를 화학적 또는 생물학적으로 유용물질로 전환하는 고정화기술로 대별될 수 있다. 그 중에서도 생물학적인 방법은 상온, 상압에서 태양광을 에너지원으로 하는 광합성반응을 이용하는 것으로서 환경친화적인 접근방법으로 알려지고 있다[2, 3].

생물학적으로 이산화탄소를 고정화하는 방법은 크게 두 가지로 구분할 수 있다. 먼저 간접적인 방법으로서 지구의 볼모지나 바다에 삼림을 조성하는 것으로서 실로 자연적인 탄소순환능력을 회복시키는 접근이라 할 수 있으며 가장 경제적인 방법 중의 하나로 평가되고 있다[4, 5]. 또 하나는 생물공학적인 기술을 이용하여 미세조류 및 시아노박테리아와 같은 광합성미생물을 배양함으로써 화력발전소나 제철소에서 방출되는 배가스를 직접적으로 정화하려는 방법으로서 약 10년전부터 일본을 중심으로 집중적으로 연구되고 있다[2, 6-17]. 이러한 직접적인 방법은 우리 나라나 일본과 같이 유향자가 적은 국가에서 선호될 수 있는 접근방법이라 할 수 있다.

배가스로부터 이산화탄소를 생물학적으로 직접 제거하고자 하는 데는 몇 가지 문제점이 지적되었는데 그 중에서도 고농도 이산화탄소에 대한 광합성미생물의 내성 문제는 오랫동안 연구의 대상이었다[6-9, 15]. 즉 화력발전소나 제철소에서 배출되는 배가스 중에는 10-20%(v/v)의 이산화탄소가 함유되어 있는데 이는 대기 중의 농도보다 무려 500배가량 농축되어 있는 것으로 이러한 환경에서 대부분의 광합성미생물은 성장이 멈추고 더 이상 광합성반응을 하지 못하기 때문이다. 따라서 고농도의 이산화탄소 하에서도 광합성 활성을 유지하는 새로운 광합성미생물을 자연계로부터 분리하려는 집중적인 연구가 수행되어 현재는 이산화탄소를 직접 고정화하는 목적에 부합하는 많은 종류의 광합성미생물이 연구에 이용되고 있다[6-9, 15]. 또한 이미 고부가가치 물질을 생산하거나 폐수처리 등의 목적으로 대량생산되고 있는 많은 종류의 광합성미생물을 고농도 이산화탄소에 적응시키고자 하는 연구도 활발히 수행되고 있다[8, 16].

그밖에도 광생물반응기의 운전조건을 조절하여 이러한 내성문제를 해결할 수 있는 방법 또한 제시되고 있는데[17], 즉 고농도 이산화탄소를 함유한 기체를 재순환하여 광생물반응기 내부의 이산화탄소 농도를 최적의 농도범위에서 유지함으로써 결과적으로 내성문제를 해결함과 동시에 이산화탄소 전환율을 크게 향상시키는 결과가 보고되었다. 이러한 접근은 내성이 강한 광합성미생물을 분리하려는 기존의 연구방향과는 다소 다른 것으로 운전조건 선택에 의해 내성문제를 해결할 수 있다는 가능성을 제시하였다고 평가할 수 있을 것이다. 이러한 기체 순환형 광생물반응기에서는 미세조류가 성장하면서 반응기 내부의 이산화탄소 농도가 시간에 따라 연속적으로 변화하기 때문에 미세조류의 성장을 예측하기가 쉽지 않다. 왜냐하면 이러한 형태의 광생물반응기의 성능을 예측하기 위해서는 이산화탄소의 전달속도 및 평형관계를 이해해야 하며 각 이산화탄소 농도에서의 미세조류의 활성변화를 수학적으로 기술해야 하기 때문이다. 따라서 이에 관련한 폭넓은 연구가 수행되어야만 이러한 형태의 광생물반응기의 성능을 예측하고 운전조건을 최적화할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 이미 이산화탄소의 고정화목적으로 많은 연구[16-20]가 수행되고 있는 미세조류(*Chlorella vulgaris*, UTEX 259)를 대상으로 이산화탄소의 농도에 따른 고정화능력의 변화에 대하여 살펴보았다. 특히 기상으로부터 액상으로의 이산화탄소 전달속도를 실험적으로 구하여 기상에서의 부분압뿐만 아니라 용존 농도의 영향을 고찰하였으며 미세조류의 회분식 배양에서 무기탄소원의 거동을 정량적으로 계산하였다. 또한 이산화탄소에 의한 저해현상을 경험식으로 기술하고자 하였으며 저해현상에 대한 가역성을 실험적으로 입증하였다.

2. 실험

2-1. 미세조류 및 배양실험

본 연구에서 사용한 미세조류는 이산화탄소의 생물학적인 고정화연구에서 많이 사용되어온 *Chlorella vulgaris* UTEX 259로서 the Culture Collection of Algae at the University of Texas(Austin, TX, USA)로부터 분양 받았다[16-21]. 본 미세조류는 0.4 dm³의 N8 배지[22]가 채워져 있는 0.5 dm³ 배양기에서 배양되었는데 N8 배지에는 유기성 탄소원을 전혀 포함하지 않고 있다. 이때 N8 배지는 멸균전에 수산화이온 농도를 pH 6.0으로 조절하였으며 멸균후에도 pH는 거의 6.0으로 유지되었다. 배양용기인 bottle 주변에는 형광등(20 W, 한국 General Electric)을 이용하여 110 μE m⁻²s⁻²의 빛을 공급하였으며 배양기내부의 온도는 25 °C로 유지하였다. Seed culture는 공기를 0.8 dm³ min⁻¹의 유속으로 공급하면서 준비되었으며 linear growth phase에서 일정 부피를 취한 후 각종 이산화탄소 농도에서의 배양실험을 위한 접종으로 사용하였다. 여러 종류의 이산화탄소 부분압은 유량계를 이용하여 공기와 순수 이산화탄소의 유량을 설정함으로써 조절되었으며 모든 실험에서 혼합기체의 유량은 0.8 dm³ min⁻¹이었다.

2-2. 미세조류의 성장 및 고정화 이산화탄소

미세조류의 성장은 건조중량으로 표현되었는데 이는 조류배양액 0.005 dm³을 0.45 μm 여과지로 거른 후 90 °C에서 24시간 동안 건조하여 측정하였다. 앞에서 언급한 바와 같이 N8 배지의 경우 유기탄소원을 전혀 포함하고 있지 않기 때문에 미세조류의 성장은 완벽한 자양성장으로 생각할 수 있다. 따라서 미세조류의 성장으로부터 고정화된 이산화탄소(F_{CO₂}, g · dm⁻³)의 양은 특정시간에서의 조류농도(X, g · dm⁻³) 및 초기 조류농도(X₀, g · dm⁻³), 조류의 탄소함량(C_c, 0.507 g carbon · g⁻¹ dry weight), 유출수내의 조류농도(X, g · dm⁻³) 및 이산화탄소의 분자량(M_{CO₂}, 44 g · mol⁻¹)과 탄소의 원자량(M_C, 12 g · mol⁻¹)의 비로부터 식 (1)과 같이 계산할 수 있다.

$$F_{CO_2} = C_c(X - X_0) \frac{M_{CO_2}}{M_C} \quad (1)$$

또한 이산화탄소의 고정화속도(R_{CO₂}, g · dm⁻³ · h⁻¹)는 배양도중 미세조류의 탄소함량은 일정하게 유지된다는 가정 하에 식 (1)을 미분하면 식 (2)와 같이 표현할 수 있다.

$$R_{CO_2} = \frac{dF_{CO_2}}{dt} = C_c \frac{M_{CO_2}}{M_C} \frac{dX}{dt} \quad (2)$$

대부분의 미세조류 배양에서는 빛의 제한현상 때문에 성장곡선이 전형적인 형태를 나타내며 이러한 linear growth phase에서는 부피당 미세조류의 성장속도를 상수로서 표현할 수 있다. 본 연구에서는 이산화탄소의 농도에 따라서 선형성장속도의 변화를 측정하고 이로부터 식 (2)를 사용하여 이산화탄소의 고정화속도를 구하였다.

2-3. 산소 및 이산화탄소 전달계수

조류의 광합성을 통하여 섭취되는 이산화탄소와 생산되는 산소의 전달속도를 정량화하기 위해서는 전달계수를 구해야 한다. 이때 산소의 전달계수의 경우 gassing-in method[23]를 이용하여 쉽게 구할 수 있다. 즉 질소를 폭기하여 배지 중의 용존산소를 완전히 제거한 이후에 공기를 주입하면서 시간에 따른 용존산소의 증가를 측정하면 이것으로부터 식 (3) 및 이의 적분식 (4)를 이용하여 산소전달계수를 구할 수 있다(Fig. 1).

$$\frac{d[O_2]}{dt} = k_L a(O_2) \cdot ([O_2]^{sat} - [O_2]) \quad (3)$$

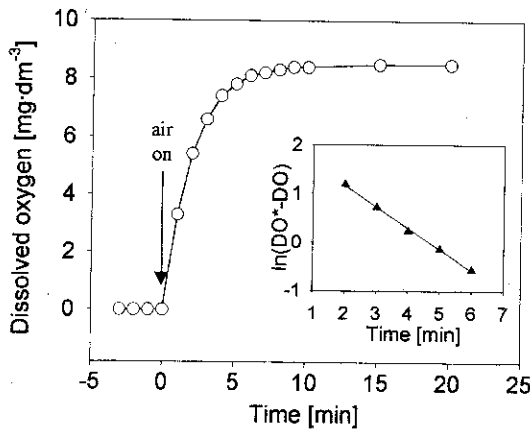


Fig. 1. Dissolved oxygen variation during aeration and volumetric oxygen transfer coefficient.

$$\ln([O_2]^{sat} - [O_2]) = \text{constant} - k_L a(O_2) \cdot t \quad (4)$$

여기서 $[O_2]^{sat}$ ($8.67 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)는 포화 용존산소 농도이며 $[O_2]$ ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)는 각 시간(t , h)에서의 용존산소 농도이다. 또한 $k_L a(O_2)$ (h^{-1})는 산소전달계수이다.

그러나 용존 이산화탄소의 농도는 TOC 분석기를 이용하여 측정 가능하나 최소한 2분 이상의 response time이 소요되기 때문에 시간에 따른 변화를 정확하게 추적하기가 쉽지 않으며 일부 상용화되어 있는 전극의 경우에도 정확성이 떨어지므로 전달계수를 실험적으로 구하는 것이 어려운 실정이다. 그러나 다행히도 조류의 배양에서 이산화탄소의 전달속도는 액상에서의 이온화반응에 영향을 받지 않으며 이산화탄소 전달계수($k_L a$, h^{-1})는 아래의 식 (5)와 같이 산소전달계수($k_L a(O_2)$, h^{-1})로부터 계산될 수 있다고 보고되었다[24, 25].

$$k_L a = k_L a(O_2) \sqrt{\frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}}} \quad (5)$$

여기서 D_{CO_2} ($6.91 \times 10^{-2} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)는 이산화탄소의 확산계수이며 D_{O_2} ($7.56 \times 10^{-2} \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)는 산소의 확산계수이다. 따라서 본 연구에서는 N8 배지에서의 산소전달계수를 실험적으로 구한 이후에 산소 및 이산화탄소의 확산계수를 이용하여 식 (5)와 같이 이산화탄소의 전달계수를 계산하였다.

2.4. 분석

미세조류가 성장하면서 N8 배지내의 수소이온 농도는 pH 전극(Model 910600, TM ATI-Orion Research Inc., USA)을 사용하여 측정하였으며 산소전달계수를 구하기 위한 용존산소는 DO 전극(Model 056644, Cole-Parmer International, USA)을 사용하여 측정하였다. 또한 무기탄소의 농도는 TOC 분석기(TOC-5000A, Shimadzu, Japan)를 사용하여 분석하였는데 이때 측정되는 값은 용존 CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- 및 CO_3^{2-} 를 모두 합한 total inorganic carbon(TIC)이므로 Henderson-Hasselbach 식을 사용하여 용존 이산화탄소의 양을 계산하였다. 빛의 세기는 photosynthetically active radiation(PAR) 범위에서의 광자를 측정할 수 있는 quantum sensor(LI-190SA, Licor, USA)를 data logger(LI-1000, Licor)에 연결하여 측정하였다. 미세조류내의 탄소함량은 linear growth phase에서 채취된 바이오매스를 건조한 이후에 원소분석기(CHNS-932, Leco, USA)를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 이산화탄소의 전달속도 및 평형농도

화학공학 제37권 제5호 1999년 10월

재료 및 방법에서 언급한 대로 이산화탄소의 전달속도를 정확하게 하기 위하여 먼저 기상으로부터 N8 배지로의 산소전달계수를 실험적으로 측정하였다(Fig. 1). 이때 기체의 유량은 배양실험에서와 동일하게 $0.8 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ 이었으며 N8 배지는 0.4 dm^3 이었다. N8 배지 중의 용존산소는 질소의 폭기로 인하여 0으로 유지되었다가 공기를 폭기하면서 시간에 따라 급격히 증가하는 것을 볼 수 있다. 이로부터 식 (4)를 이용하여 도시하면 선형관계를 얻을 수 있으며(Fig. 1의 내부) 산소전달계수는 26.2 h^{-1} 으로 평가되었다. 산소의 전달계수로부터 식 (5)를 이용하여 이산화탄소의 전달계수를 구하면 25.1 h^{-1} 임을 알 수 있다.

이상과 같이 전달계수에 대한 정보를 알고 있으면 이산화탄소를 포함한 기체가 배지로 폭기될 때 시간에 따른 pH 및 무기성 탄소($[\text{CO}_2]$, $[\text{HCO}_3^-]$, $[\text{CO}_3^{2-}]$)의 거동을 계산할 수 있다. 미세조류의 광합성 활성은 용존 무기탄소의 농도뿐만 아니라 pH에 민감하므로 이에 대한 정보를 미리 예측하는 것은 생물학적 이산화탄소 고정화연구에서 빼놓을 수 없는 작업이 될 수 있을 것이다. 먼저 기상에서 액상으로 전달된 이산화탄소는 식 (6), (7) 및 (8)과 같이 순차적으로 이온화되면서 수소이온을 생산하므로 배지 중의 pH는 감소하게 된다.



식 (6), (7) 및 (8)을 이용하여 각 무기탄소의 변화속도식을 표현하면 아래의 식 (9), (10) 및 (11)과 같이 정리할 수 있다.

$$\frac{d[\text{CO}_2]}{dt} = k_L a([\text{CO}_2]^{sat} - [\text{CO}_2]) - k_{+1}[\text{CO}_2] + k_{-1}[\text{HCO}_3^-][\text{H}^+] \quad (9)$$

$$\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dt} = k_{+1}[\text{CO}_2] - k_{-1}[\text{HCO}_3^-][\text{H}^+] - k_{+2}[\text{HCO}_3^-] + k_{-2}[\text{CO}_3^{2-}][\text{H}^+] \quad (10)$$

$$\frac{d[\text{CO}_3^{2-}]}{dt} = k_{+2}[\text{HCO}_3^-] - k_{-2}[\text{CO}_3^{2-}][\text{H}^+] \quad (11)$$

한편 실제로 TOC 분석기로 측정이 가능한 것은 TIC이므로 이에 대한 식으로 정리하면 아래의 식 (12)를 얻을 수 있다. 여기서 $[\text{CO}_2]^{sat}$ 는 이산화탄소의 평형농도로서 Henry 상수($29.5 \text{ atm} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ C}$)를 이용하여 계산할 수 있다[26].

$$\frac{d[\text{TIC}]}{dt} = \frac{d[\text{CO}_2]}{dt} + \frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dt} + \frac{d[\text{CO}_3^{2-}]}{dt} = k_L a([\text{CO}_2]^{sat} - [\text{CO}_2]) \quad (12)$$

실제로 액상에서의 무기탄소들간의 평형반응은 이산화탄소의 전달 속도에 비하여 대단히 빠르기 때문에 액상의 무기탄소들은 항상 평형을 이루고 있다고 볼 수 있다. 즉 아래의 식 (13) 및 (14)와 같은 Henderson-Hasselbach식에 의하여 이들간의 농도관계를 표현할 수 있다. 여기서 $\text{p}K_1(6.35)$ 및 $\text{p}K_2(10.33)$ 는 각각 식 (7) 및 (8)의 반응식에서의 평형관계를 보여준다.

$$\log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} = \text{pH} - \text{p}K_1 \quad (13)$$

$$\log \frac{[\text{CO}_3^{2-}]}{[\text{HCO}_3^-]} = \text{pH} - \text{p}K_2 \quad (14)$$

위의 두 식을 이용하여 용존 이산화탄소의 농도를 TIC의 함수로서 식 (15)와 같이 나타낼 수 있으며 결과적으로 식 (12)를 식 (16)과 같

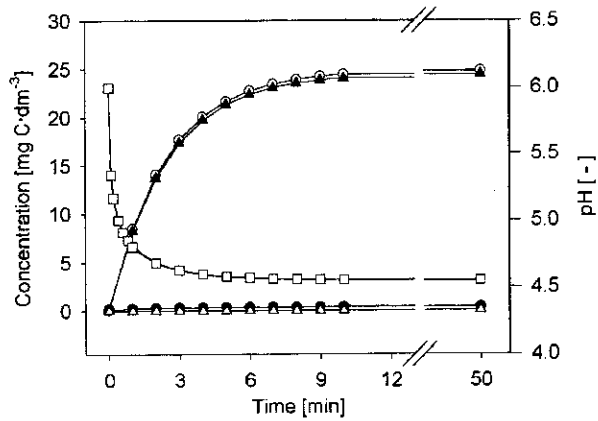


Fig. 2. Variation of inorganic carbon species and pH in N8 medium during bubbling with gas mixture containing 6% (v/v) CO_2 .

○: total inorganic carbon, ▲: dissolved CO_2 , ●: HCO_3^- , △: CO_3^{2-} , □: pH

이 표현할 수 있다.

$$[\text{CO}_2] = \frac{[\text{TIC}]}{1 + K_1/[\text{H}^+] + K_1 K_2/[\text{H}^+]^2} \quad (15)$$

$$\frac{d[\text{TIC}]}{dt} = k_L a \left([\text{CO}_2]^{\text{sat}} - \frac{[\text{TIC}]}{1 + K_1/[\text{H}^+] + K_1 K_2/[\text{H}^+]^2} \right) \quad (16)$$

또한 수소이온의 경우에도 마찬가지로 TIC의 함수로서 정리하면 식 (17)과 같다.

$$[\text{H}^+] = 0.5 \left\{ [\text{H}^+]_0 - [\text{HCO}_3^-]_0 - K_1 \sqrt{([\text{H}^+]_0 - [\text{HCO}_3^-]_0 - K_1)^2 - 4K_1[\text{TIC}]} \right\} \quad (17)$$

여기서 하첨자 0은 초기의 배지조성을 나타내는데 즉 초기에는 공기 중의 0.035(v/v)% 이산화탄소에 평형을 이루고 있으며 pH는 6.0으로 생각할 수 있다. 이러한 상황에서 TIC의 초기농도를 식 (15)를 이용하여 계산하면 $0.14 \text{ mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 임을 구할 수 있다. 시간에 따른 TIC 및 pH의 변화를 구하기 위해서는 식 (16)에 식 (17)을 대입한 이후에 수치해를 구하면 된다.

순수한 물에 6%(v/v) 이산화탄소를 포함한 혼합가스가 주입될 때 시간에 따른 용존 무기탄소 및 pH의 거동은 Fig. 2와 같다. 즉 이산화탄소가 물에 녹으면서 용존 이산화탄소는 일부 이온화되어 수소이온과 bicarbonate이온의 농도가 증가하고 있으나 평형상태에서 대부분의 용존 무기탄소는 이산화탄소 형태로 존재함을 알 수 있다. 또한 용존 무기탄소는 10분 이내에 거의 평형농도에 이르며 pH의 경우는 좀더 빠르게 평형 값에 도달함을 알 수 있다. 그러나 이는 순수한 물에 대하여 계산한 것이므로 N8 배지에서의 상황은 달라질 수 있다. Fig. 3은 N8 배지에 다양한 이산화탄소 부분압의 혼합기체를 주입하여 평형에 도달하였을 때 용존 이산화탄소 및 pH를 나타내고 있다. 이때 이산화탄소의 농도는 직접 측정된 것이 아니고 TIC의 농도 및 배지의 평형 pH를 측정하여 식 (15)로부터 계산한 것이다. N8 배지에서의 평형 pH는 물에서의 평형 pH보다 상당히 높은 것을 알 수 있는데 이것은 N8 배지 내에 존재하는 인화합물에 의한 완충효과가 있기 때문으로 판단된다. 그러나 이산화탄소의 평형농도는 순수한 물의 경우와 N8 배지의 경우에서 같은 결과를 보여주고 있다. 따라서 순수

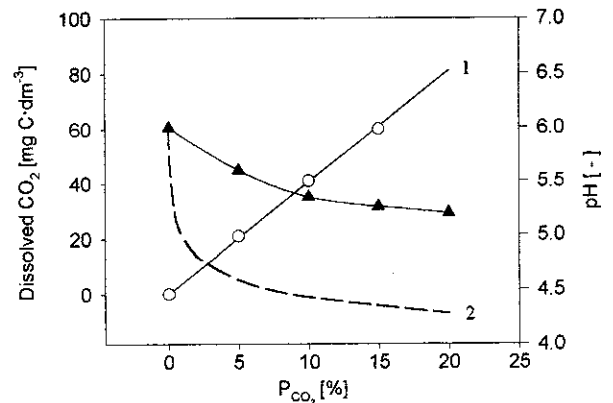


Fig. 3. Equilibrium concentrations of dissolved CO_2 and proton in pure water and the N8 medium at different partial pressure of CO_2 .

○: dissolved CO_2 in the N8 medium, ▲: pH in the N8 medium, 1: dissolved CO_2 in pure water, 2: pH in pure water.

한 물에서의 평형관계정보인 Henry 상수 및 무기탄소간의 평형상수를 N8 배지에서도 그대로 이용할 수 있음을 알 수 있다. 그러나 미세조류가 성장하는 동안 무기탄소원의 거동에 대한 정보를 알기 위해서는 pH의 변화를 직접 측정하는 것이 바람직할 것이다.

3-2. 미세조류의 성장 및 이산화탄소의 거동

미세조류가 성장하는 동안 이산화탄소는 연속적으로 배지로 전달되

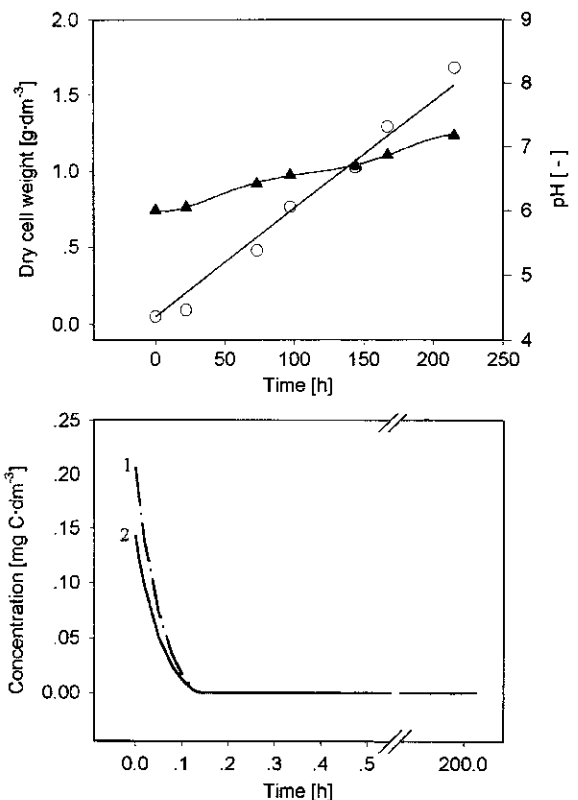


Fig. 4. Time course of fixed CO_2 , pH and dissolved inorganic carbons during microalgal culture under 0.035% (v/v) CO_2 containing gas mixture.

○: fixed CO_2 , ▲: pH, 1: total inorganic carbon, 2: dissolved CO_2
Polynomial expressions used: $X(t) = 0.05 + 7.05 \cdot 10^{-3}t$, $\text{pH}(t) = 6 - 4.23 \cdot 10^{-3}t + 3.81 \cdot 10^{-4}t^2 - 4.93 \cdot 10^{-6}t^3 + 2.56 \cdot 10^{-8}t^4 - 4.62 \cdot 10^{-11}t^5$

면서 동시에 고정화되는데 이러한 과정을 수식으로 표현하면 식 (16)에 미세조류에 의한 이산화탄소의 고정화속도(R_{CO_2})를 포함하는 식 (18)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{d[TIC]}{dt} = k_L a \left([CO_2]^{sat} - \frac{[TIC]}{1 + K_1/[H^+] + K_1 K_2/[H^+]^2} \right) - R_{CO_2} \quad (18)$$

여기서 이산화탄소의 고정화속도는 식 (2)를 이용하여 성장곡선으로부터 얻을 수 있으며 pH의 경우 배양도중 직접 측정된 값을 이용할 수 있다. 즉 식 (18)에서 모든 변수를 시간 및 TIC로 표현할 수 있으므로 수치해를 구할 수 있게 되며 본 연구에서는 수치해를 위한 algorithm으로 4차 Runge-Kutta method를 사용하였다. 식 (18)을 풀기 위한 초기조건은 pH가 6.0인 N8 배지가 0.035%(v/v)의 이산화탄소를 포함한 공기와 평형을 이루고 있는 조건이다.

Fig. 4에는 0.035%(v/v)의 이산화탄소를 함유하는 공기를 주입하면서 *C. vulgaris*를 배양하였을 때 성장 곡선 및 pH를 나타내고 있다. 이 경우 10분 이내에 용존 TIC 및 이산화탄소가 고갈되어 결과적으로 미세조류의 성장은 이산화탄소의 전달에 의해 제한되고 있음을 알 수 있다. 즉 이산화탄소의 고정화속도는 이산화탄소의 최고전달속도($k_L a [CO_2]^{sat}$)와 동일하게 유지되고 있음을 알 수 있다.

그러나 2%(v/v)의 이산화탄소가 공급될 경우에는 초기에 빠르게 이산화탄소가 전달되어 용존 이산화탄소의 농도가 급격히 증가하여 평

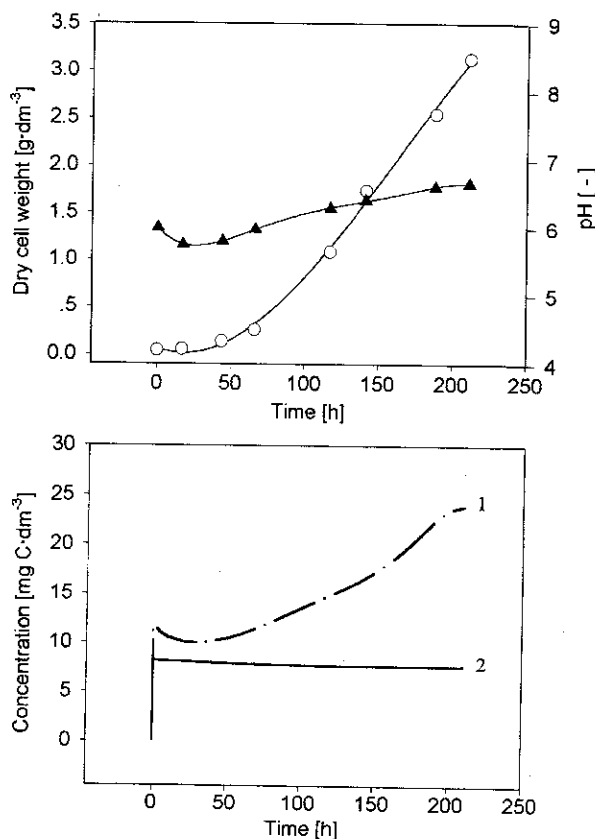


Fig. 5. Time course of fixed CO_2 , pH and dissolved inorganic carbons during microalgal culture under 2% (v/v) CO_2 containing gas mixture.

○: fixed CO_2 , ▲: pH, 1: total inorganic carbon, 2: dissolved CO_2
Polynomial expressions used: $X(t) = 0.068 - 5.96 \cdot 10^{-3}t + 1.70 \cdot 10^{-4}t^2 - 3.478 \cdot 10^{-7}t^3$, $pH(t) = 6 - 2.45 \cdot 10^{-2}t + 7.04 \cdot 10^{-4}t^2 - 6.90 \cdot 10^{-6}t^3 + 3.02 \cdot 10^{-8}t^4 - 4.92 \cdot 10^{-11}t^5$

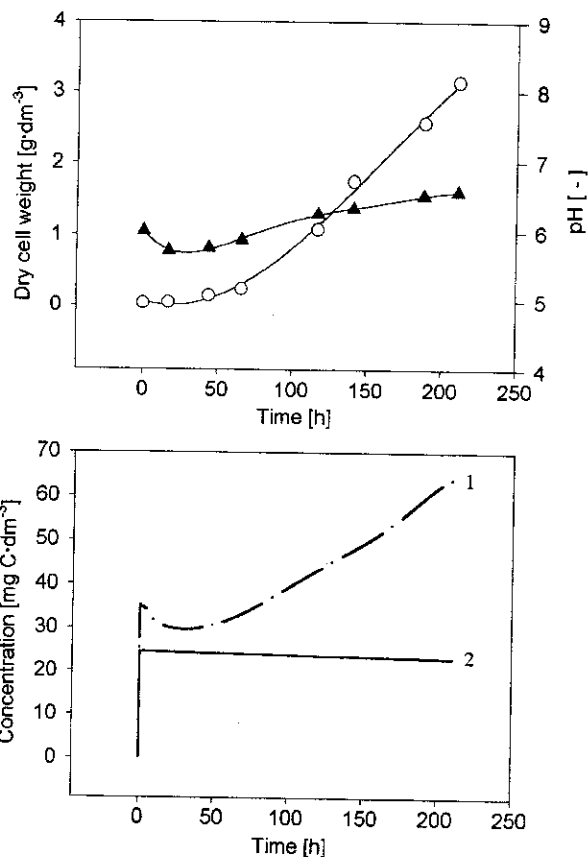


Fig. 6. Time course of fixed CO_2 , pH and dissolved inorganic carbons during microalgal culture under 6% (v/v) CO_2 containing gas mixture.

○: fixed CO_2 , ▲: pH, 1: total inorganic carbon, 2: dissolved CO_2
Polynomial expressions used: $X(t) = 0.07 - 6.21 \cdot 10^{-3}t + 1.74 \cdot 10^{-4}t^2$, $pH(t) = 6 - 2.50 \cdot 10^{-2}t + 6.55 \cdot 10^{-4}t^2 - 5.92 \cdot 10^{-6}t^3 + 2.40 \cdot 10^{-8}t^4 - 3.66 \cdot 10^{-11}t^5$

형농도($8.14 \text{ mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$)와 $7.70 \text{ mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 사이에서 유지되고 있는 것을 알 수 있다(Fig. 5). 즉 2%(v/v)의 이산화탄소하에서는 미세조류의 성장이 이산화탄소의 전달속도에 제한되지 않으므로 용존무기탄소가 배지에서 고갈되지 않고 있으며 무기탄소의 존재형태는 배지의 pH에 의하여 Fig. 5와 같이 변화하는 것을 알 수 있다. 그러나 TIC의 농도의 경우 배양액의 pH 변화에 따라 크게 영향을 받는 것을 알 수 있다. pH의 경우 초기에는 이산화탄소가 전달되면서 감소하지만 미세조류가 성장하면서 배지 중의 질산염이 소비되기 때문에 다시 완만하게 상승하고 있다. 그러나 본 연구에서 사용된 *C. vulgaris*는 pH 6과 9사이에서는 pH에 관계없이 최고의 성장활성을 나타내므로 모든 배양에서 pH의 영향은 없다고 볼 수 있다[18]. 6%(v/v)의 이산화탄소를 공급할 경우에도 같은 경향을 보이나 배양기간동안 용존 이산화탄소는 평형농도($24.4 \text{ mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$)를 유지하는 것을 알 수 있다(Fig. 6). 이산화탄소의 부분압이 더 증가할 경우에도 이산화탄소의 농도는 평형치를 유지하는 것을 확인하였으나 본 논문에는 생략하였다. 따라서 본 연구에서와 같이 이산화탄소의 전달속도가 25.1 h^{-1} 인 경우 2%(v/v)의 이산화탄소만으로 이산화탄소에 의한 제한 현상은 극복되는 것을 알 수 있다. 또한 2%(v/v)이상의 이산화탄소를 공급할 경우 미세조류가 성장하는 동안에 용존 이산화탄소의 농도는 거의 포화농도의 수준에서 유지됨을 알 수 있다.

3.3. 이산화탄소 농도에 따른 고정화속도

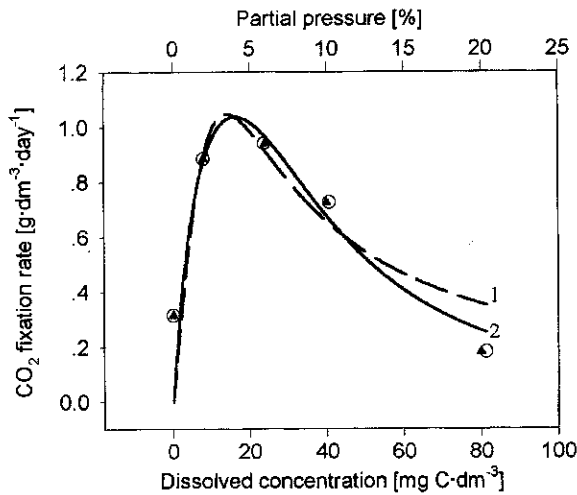


Fig. 7. Effects of dissolved CO_2 concentration (O) and CO_2 partial pressure (▲) on microalgal CO_2 fixation rate in the linear growth phase.

1: fitted by Eq. (19) which has $r^2=0.899$, 2: fitted by Eq. (20) which has $r^2=0.978$.

Fig. 7에서는 기상의 이산화탄소 부분압 및 액상의 농도에 따른 이산화탄소의 고정화속도를 살펴보고 있는데, 이때 이산화탄소의 고정화속도는 linear growth phase에서 식 (2)를 이용하여 평가된 것이다. 실제로 미세조류의 활성은 공급되는 기체의 이산화탄소 부분압보다는 용존 이산화탄소의 농도에 직접적인 영향을 받는다고 할 수 있다. 또한 기상의 이산화탄소 농도가 동일하더라도 용존 이산화탄소는 운전 조건에 따라 변화하는 전달계수에 의존하여 다를 수 있다. 그러므로 반응기의 운전조건에 독립적인 관계를 얻기 위해서는 고정화속도를 용존하는 이산화탄소 농도의 함수로서 표현하는 것이 타당할 것이다. 그러나 본 연구에서는 이산화탄소의 전달속도가 충분히 빠른 상황에서 수행되었기 때문에 앞서 언급한 바와 같이 2%(v/v) 이상의 이산화탄소 부분압에서는 용존 이산화탄소의 농도가 평형농도 부근에서 유지되었다. 따라서 Fig. 7에서 볼 수 있듯이 고정화속도는 용존 이산화탄소의 평균농도의 함수로 표시하는 경우와 공급기체 중의 이산화탄소 농도로 표시하는 경우와 동일하게 나타나고 있다.

Fig. 7에서 보여주듯이 이산화탄소의 고정화속도는 용존 이산화탄소의 농도에 따라 크게 변화함을 알 수 있다. 즉 용존농도가 8-24 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 범위에서 가장 높은 속도를 보여주고 있으며 41 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 이상에서는 급격히 감소하고 있다. 이산화탄소의 주요 발생원인 화력 발전소나 제철소에서 방출되는 배가스에는 이산화탄소의 부분압이 10-20%(v/v)이므로 이는 용존농도로 40.7-81.4 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 에 해당하며 이러한 구간에서 고정화속도가 급격히 감소하는 문제는 생물학적 이산화탄소 고정화에서 가장 큰 문제점의 하나로 인식되어 왔다. 이러한 문제를 해결하기 위한 노력의 일환으로 순차적으로 이산화탄소 부분압을 상승시킴으로써 미세조류의 적응력을 성공적으로 향상시킨 연구사례가 보고되어 있다[16]. 또한 광생물반응기의 운전변수를 조절함으로써 이산화탄소에 의한 저해현상을 극복할 수 있다는 연구결과도 발표되고 있다[17]. 즉 20%(v/v)의 이산화탄소를 포함한 혼합기체를 사용하더라도 체류시간을 증가시킴으로써 광생물반응기 내부의 부분압을 미세조류가 가장 선호하는 5%(v/v)내외로 유지할 수 있다면 최고의 고정화속도를 얻을 수 있게 됨으로 이에 대한 좀더 깊이 있는 연구가 요구된다고 판단된다. 이를 위해서는 무엇보다도 이산화탄소의 농도에 따른 고정화속도의 변화를 수식으로 표현해야만 운전변수를 성공적으로 결정할 수 있을 것이다.

고정화율에 미치는 이산화탄소 농도의 영향을 수학적으로 기술하고자 할 때 주로 아래의 경험식을 주로 이용하여 왔다[23].

$$R_{\text{CO}_2} = \frac{R_{\text{max}}[\text{CO}_2]}{K_s + [\text{CO}_2] + [\text{CO}_2]^2/K_i} \quad (19)$$

그러나 Fig. 7에서 보듯이 고농도의 이산화탄소에서 저해현상이 급격하게 일어나므로 식 (19)는 실험결과를 만족스럽게 표현하지 못하고 있다. 따라서 본 연구에서는 식 (20)과 같이 기존식을 변형하여 좀더 정확하게 실험결과를 표현하고자 하였으며 실험결과로부터 추정된 매개변수, R_{max} , K_s 및 K_i 는 각각 1.9 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$, 13.8 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 및 980 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$ 이었다. 그러나 이와 같은 경험적인 수식으로 관련된 모든 현상을 설명하는 데는 한계가 발견되고 있다. 하나의 예로서 미세조류의 광합성은 용존 이산화탄소가 아주 낮은 상황에서도 왕성한 활성을 보이는 것으로 알려져 있는데, 본 연구결과에서도 용존 농도가 거의 0인 상태에서도 여전히 0.31 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$ 의 속도로 이산화탄소는 고정되고 있다. 이것은 미세조류가 진화과정에서 아주 낮은 이산화탄소에 충분히 적응되면서 세포내부에 탄소를 농축시키는 메커니즘(carbon concentrating mechanism; CCM)을 가지고 있기 때문으로 여겨지고 있다[27-29]. 이러한 특성은 식 (19) 및 (20)과 같은 경험식으로는 설명할 수 없는 것이며 따라서 향후 연구에서는 메커니즘에 바탕을 둔 정확한 모델이 만들어져야 할 것으로 판단된다.

$$R_{\text{CO}_2} = \frac{R_{\text{max}}[\text{CO}_2]}{K_s + [\text{CO}_2] + [\text{CO}_2]^3/K_i} \quad (20)$$

또한 실제로 미세조류를 이용하여 이산화탄소를 직접 고정화하고자 할 경우 이산화탄소 부분압은 대략적으로 5%(v/v) 내지 20%(v/v) 범위에 놓이게 된다[2, 17]. 따라서 경험식을 이용하더라도 고농도의 이산화탄소 범위에서 고정화속도를 비교적 잘 표현하고 있는 식 (20)이 좀더 바람직할 것으로 판단된다.

3.4. 이산화탄소에 의한 저해현상의 가역성

이산화탄소에 의한 저해현상의 특성을 좀더 살펴보기 위하여 5%(v/v)의 이산화탄소 하에서 미세조류가 왕성히 성장하고 있는 중간에 30%(v/v)의 이산화탄소를 주입하여 인위적으로 저해상황을 조성하였다(Fig. 8). 이때 pH는 많은 양의 이산화탄소가 녹아 들어가면서 급격히 감소하지만 여전히 *C. vulgaris*의 최적 pH 범위 내에서 유지되었다. 따라서 미세조류는 고농도의 이산화탄소(약 122 $\text{mg C} \cdot \text{dm}^{-3}$)

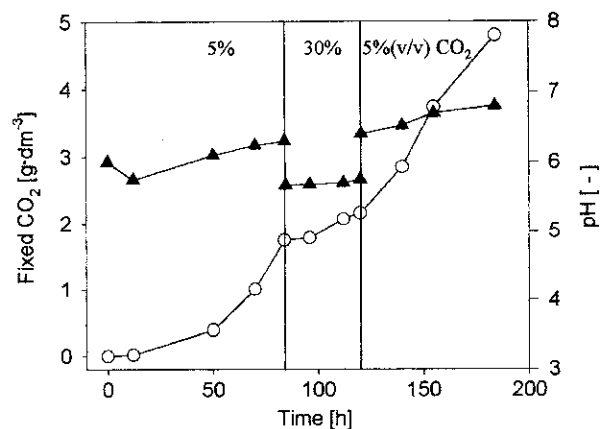


Fig. 8. Effect of shock loading of 30%(v/v) CO_2 on microalgal CO_2 fixation.

○: fixed CO_2 , ▲: pH

에 의해 거의 성장을 멈추게 된다고 볼 수 있다. 그후 다시 5%(v/v)의 이산화탄소를 공급하여 주었을 경우 용존 이산화탄소가 탈기되면서 조류는 다시 왕성하게 성장을 계속하였다.

이러한 실험결과는 고농도 이산화탄소에 의한 저해현상이 가역적임을 보여주고 있다. 이산화탄소에 의한 저해현상의 가역성은 실험적 사실로서 이미 보고된 적이 있으나[7] 아직까지 그 메커니즘은 명쾌하게 밝혀지지 않았다. 그러나 이러한 특성은 실용적인 면에서 장점으로 해석될 수 있다. 즉 고농도 이산화탄소의 단기적인 충격에 의해 미세조류가 사멸하지 않고 조건이 호전되면 다시 활성이 회복될 수 있으므로 운전이 용이하다고 볼 수 있다. 또한 저해현상이 가역적이므로 이산화탄소의 부분압이 크게 변화하는 상황에서도 식 (20)과 같은 경험식을 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

감 사

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 대학교수 해외파견 연구 지원에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

- Schneider, S. H.: *Science*, **243**, 771(1989).
- Karube, T., Takeuchi, T. and Barnes, D. J.: *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, **46**, 63(1992).
- Hall, D. O. and House, J. I.: *Energy Convers. Manag.*, **34**, 889(1993).
- Davison, J. E. and Freund, D.: A comparison of sequestration of CO₂ by forestry and capture from power stations, Presented in the Fourth International Conference on Greenhouse Gas Control Technologies, Switzerland(1998).
- Riemer, W. O. and Smith A.: "Carbon Dioxide Utilization," IEA Greenhouse Gas R&D Programme, Stoke Orchard, Cheltenham, UK(1995).
- Takeuchi, T., Utsunomia, K., Kobayashi, K., Owada, M. and Karube, I.: *J. Biotechnol.*, **25**, 261(1992).
- Hanagata, N., Takeuchi, T., Fukuju, Y., Barnes, D. J. and Karube, I.: *Phytochemistry*, **31**, 3345(1992).
- Kodama, M., Ikemoto, H. and Miyachi, S.: *J. Mar. Biotechnol.*, **1**, 21(1993).
- Yoshihara, K.-I., Nagase, H., Eguchi, K., Hirata, K. and Miyachi, K.: *J. Ferment. Bioeng.*, **82**, 351(1996).
- Negoro, M., Hamasaki, A., Ikuta, Y., Makita, T., Hirayama, K. and Suzuki, S.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **39/40**, 643(1993).
- Hamasaki, A., Shioji, N., Ikuta, Y., Hukuta, Y., Makita, T., Hirayama, K., Matutaki, H., Tukamoto, T. and Sasaki, S.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **45/46**, 799(1994).
- Matunaga, T., Takeyama, H., Sudo, H., Oyama, N., Ariura, S., Takano, H., Hirano, M., Burgess, J. G., Sode, K. and Nakamura, N.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **28/29**, 157(1991).
- Takano, H., Takeyama, H., Nakamura, N., Sode, K., Burgess, J. G., Manabe, E., Hirano, M. and Matunaga, T.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **34/35**, 449(1992).
- Lee, J. S., Sung, K. D., Kim, M. S., Park, S. C. and Lee, K. W.: *Preprints of the Division of Fuel Chemistry of the American Chemical Society*, **41**, 1397(1996).
- Sung, K. D., Lee, J. S., Shin, C. S. and Park, S. C.: *Renewable Energy*, **16**, 1019(1999).
- Yun, Y.-S., Park, J. M. and Yang, J.-W.: *Biotechnol. Tech.*, **10**, 713(1996).
- Yun, Y.-S. and Park, J. M.: *Korean. J. Chem. Eng.*, **14**, 297(1997).
- Yun, Y.-S., Lee, S. B., Park, J. M., Lee, C.-I. and Yang, J.-W.: *J. Chem. Tech. Bioetchnol.*, **70**, 451(1997).
- Yun, Y.-S., Lim, S. R., Cho, K.-K. and Park, J. M.: *Biotechnol. Lett.*, **19**, 831(1997).
- Yun, Y.-S., Park, J. M. and Volesky, B.: *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**, 328(1999).
- Starr, R. C. and Zeikus, J. A.: *J. Phycol.*, **29**(Suppl.), 1(1993).
- Vonshak, A.: "Handbook of Microalgal Mass Culture," Richmond, A. ed., CRC Press, FL, 117(1986).
- Shuler, M. L. and Kargi, F.: "Bioprocess Engineering: Basic Concepts," Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ(1992).
- Talbot, P., Gortares, M. P., Lencki, R. W. and de la Noue, J.: *Biotechnol. Bioeng.*, **37**, 834(1991).
- Lee, C.-G.: PhD. Dissertation, The University of Michigan, Ann Arbor(1994).
- Stumm, W. and Morgan, J. J.: "Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters," 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., NY(1996).
- Aiba, S.: *Adv. Biochem. Eng.*, **23**, 85(1982).
- Tolbert, N. E. and Preiss, J.: "Regulation of Atmospheric CO₂ and O₂ by Photosynthetic Carbon Metabolism," Oxford University Press, UK(1994).
- Eriksson, M., Karlsson, J., Villand, P., Ramazanov, Z., Gardestrer, P. and Samuelsson, G.: "A Mitochondrial Carbonic Anhydrase is Induced by Low CO₂," Proceeding of the 7th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas, Regensburg, Germany(1996).