

미세조류 *Chlorella vulgaris* YH703의 생물질 생산성에 미치는 NaCl의 영향

리윤철, 윤철진, 황금옥

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《우리 나라에 없는 원료와 연료를 다른것으로 대용하기 위한 과학기술적문제도 풀어야 하겠습니다.》(《김정일선집》 증보판 제11권 135페이지)

미세조류는 매우 빠른 성장과 높은 기름질함량, 소금물과 여러가지 오수에서 자랄수 있는 능력, 높은 빛합성효율로 하여 화석연료를 대신하는 재생가능한 에너르기원천으로 주목을 끌고있다.[2, 4]

미세조류에 의한 생물연료생산에서 제일 큰 난점은 생산원가가 높은것[5]인데 이 문제를 해결하기 위하여 조류종의 선택, 배양방식의 조절, 배양조건의 최적화와 같은 여러가지 방법들이 제안되고있다.[7]

여러가지 민물미세조류를 높은 농도의 NaCl용액으로 처리할 때 세포내 기름질함량은 증가하지만 세포마른질량과 생물질생산성은 떨어진다.[4, 6]

론문에서는 민물미세조류 *Chlorella vulgaris* YH703의 생물질생산성에 미치는 NaCl의 영향을 평가하였다.

재료와 방법

연구재료로는 황해북도지방에서 분리한 토착민물미세조류 *Chlorella vulgaris* YH703을 리용하였다. NaCl이 0, 15, 30, 45, 60, 100, 200mmol/L로 각이하게 포함되도록 조제한 BG-11배지속에서 *Chlorella vulgaris* YH703을 15일동안 배양하면서 조류성장과 생물질생산성에 미치는 NaCl의 영향을 조사하였다. 1L들이 삼각플라스크에 각이한 농도의 배지 500mL를 넣고 지수성장기의 *Chlorella vulgaris* YH703을 20% 되게 접종한 다음 25~30°C에서 하루 12h동안 자연빛을 보장하면서 배양하였다. 조류의 침전을 막기 위하여 하루에 3번 흔들어주었으며 모든 시험은 3반복으로 하였다.

세포수는 혈구계산판을 리용한 한계희석법으로 측정하였으며 세포관찰에는 현미경(《OLYMPUS》, 15×40배)을 리용하였다.

세포마른질량(DCW)은 배양물을 5 000r/min에서 10min동안 원심분리하고 증류수로 세척한 다음 동결건조하여 측정하였다.

생물질생산성(BP)은 식 $P=(x_2-x_1)/(t_2-t_1)$ 로 계산하였다.

여기서 P 는 생물질생산성($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), x_2 , x_1 은 t_2 , t_1 시각의 세포마른질량(mg/L)이다.

엽록소함량은 선행방법[1]에 따라 다음식으로 결정하였다.

$$\text{Chla}=16.72A_{665.2}-9.16A_{652.4}$$

$$\text{Chlb}=34.09A_{652.4}-15.28A_{665.2}$$

$$\text{Caro} = \frac{A_{470} - 1.63\text{Chla} - 104.9\text{Chlb}}{221}$$

여기서 Chla—엽록소a의 함량($\mu\text{g/mL}$), Chlb—엽록소b의 함량($\mu\text{g/mL}$), Caro—카로티노이드함량($\mu\text{g/mL}$)이고 A_{470} , $A_{652.4}$, $A_{665.2}$ 는 각각 470, 652.4, 665.2nm에서 측정한 배양액의 흡광도값에서 750nm에서 측정한 흡광도값을 뺀 값이다.

기름질함량은 클로로포름:메타놀(95%이상)=1:2의 용액으로 추출하고 선행방법[3]에 따라 결정하였다. 시험구들사이의 통계적차이는 통계처리프로그램(Infostat Software Package(2012))을 리용하여 분산분석을 진행하고 평가하였다.

결과 및 논의

민물미세조류 *Chlorella vulgaris* YH703의 세포수와 세포마른질량에 미치는 NaCl의 영향을 조사한 결과는 표 1과 같다.

표 1. *Chlorella vulgaris* YH703의 세포수와 세포마른질량에 미치는 NaCl의 영향

NaCl농도 ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	0	15	30	45	60	100	200
세포수/($\times 10^7$ 개 $\cdot\text{mL}^{-1}$)	3.3	4.1	6.2	2.7	1.9	1.1	0.6
세포마른질량 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	380.8 $\pm 19.1^{\text{bc}}$	402.9 $\pm 20.7^{\text{b}}$	456.9 $\pm 18.5^{\text{a}}$	353.5 $\pm 18.9^{\text{c}}$	318.2 $\pm 13.2^{\text{d}}$	270.4 $\pm 13.5^{\text{e}}$	135.1 $\pm 15.4^{\text{f}}$

* 각이한 영문자는 $p < 0.05$ 에서 시험구들사이의 유의한 차이를 나타낸다. 배양기간 6월 15일—6월 30일

표 1에서 보는바와 같이 45mmol/L이상의 NaCl농도에서는 농도가 증가함에 따라 DCW가 크게 감소하였는데 200mmol/L 처리구에서는 135.1mg/L로서 대조의 35%정도였다. 그러나 미량의 NaCl첨가는 오히려 *Chlorella vulgaris* YH703의 성장과 생물질생산성에 좋은 영향을 주었는데 BG-11배지에 NaCl을 30mmol/L 되게 첨가하였을 때 *Chlorella vulgaris* YH703의 세포수, DCW, BP는 6.2×10^7 개, 456.9mg/L, 23.8mg/(L·d)로서 대조(3.3×10^7 개, 380.8mg/L, 18.7mg/(L·d))에 비하여 각각 1.9, 1.2, 1.3배 증가하였으며 그보다 높은 염농도에서는 생장이 억제되어 세포수와 DCW, BP가 크게 감소하였다. 이것은 50mmol/L이상의 염농도에서 민물미세조류 *Scenedesmus obliquus*의 세포마른질량과 생물질생산성이 떨어진다는 선행연구[4]와 일치하다. 그러나 50mmol/L이하의 염처리가 민물미세조류의 생물질생산성에 미치는 영향을 정량적으로 고찰한 자료는 아직까지 제기된것이 없다.

Chlorella vulgaris YH703의 배지에 적은 량의 NaCl을 첨가하였을 때 생물질생산성이 현저히 높아졌다.(그림 1)

일반적으로 스트레스를 받으면 식물과 미세조류에서 빛합성색소가 분해되거나 감소된다.

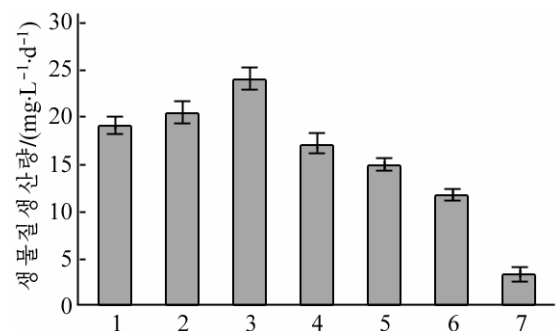


그림 1. *Chlorella vulgaris* YH703의 생물질 생산성에 미치는 NaCl의 영향
1—7은 NaCl농도가 각각 0, 15, 30, 45, 60, 100, 200mmol/L일 때

표 2는 *Chlorella vulgaris* YH703의 색소함량에 미치는 NaCl의 영향을 보여준다.

표 2. *Chlorella vulgaris* YH703의 색소함량에 미치는 NaCl의 영향

NaCl농도 /(mmol·L ⁻¹)	Chla /(μg·mL ⁻¹)	Chlb /(μg·mL ⁻¹)	Chla+b /(μg·mL ⁻¹)	Caro /(μg·mL ⁻¹)	Chla/b	Caro/Chla+b
0	5.68±0.23 ^c	3.62±0.15 ^c	9.30±0.38 ^c	1.21±0.04 ^d	1.57±0.02 ^c	0.13±0.01 ^c
15	7.05±0.27 ^b	4.46±0.26 ^b	11.51±0.54 ^b	1.43±0.06 ^b	1.58±0.02 ^{bc}	0.12±0.02 ^c
30	9.38±0.45 ^a	5.91±0.21 ^a	15.29±0.66 ^a	1.74±0.09 ^a	1.58±0.02 ^{bc}	0.11±0.03 ^c
45	5.04±0.11 ^d	3.23±0.16 ^d	8.27±0.27 ^d	1.32±0.05 ^c	1.56±0.03 ^c	0.16±0.02 ^{ab}
60	4.75±0.15 ^e	2.96±0.13 ^e	7.71±0.29 ^e	1.11±0.03 ^e	1.61±0.02 ^b	0.14±0.02 ^b
100	3.56±0.13 ^f	2.02±0.09 ^f	5.58±0.22 ^f	0.80±0.03 ^f	1.76±0.06 ^a	0.14±0.03 ^{bc}
200	2.25±0.12 ^g	1.23±0.08 ^g	3.48±0.21 ^g	0.61±0.02 ^g	1.83±0.05 ^a	0.18±0.01 ^a

* 각이한 영문자는 $p<0.05$ 에서 시험구들사이의 유의한 차이를 나타낸다.

배지속의 NaCl농도가 30mmol/L보다 높을 때에는 빛합성색소들인 엽록소a(Chla), 엽록소b(Chlb), 카로티노이드(Caro)함량이 현저하게 감소되었다. 이때 배양액의 색은 누렇게 변했다. 30mmol/L의 NaCl농도에서 엽록소a, 엽록소b, 카로티노이드함량은 9.38, 5.91, 1.74μg/mL로서 가장 높았는데 이때 배양액의 색은 대조보다 진한록색을 나타냈다.

NaCl처리농도가 높아짐에 따라 Chla/b, Caro/Chla+b값이 커지는것은 빛산화에 의한 손상을 막기 위한 방어적기능의 하나라고 본다.[4] 30mmol/L이하의 NaCl농도에서 Chla, Chlb와 Chla/b의 값이 큰것은 이러한 조건이 *Chlorella vulgaris* YH703에 스트레스요인으로 되지 않으며 오히려 성장에 긍정적영향을 준다는것을 보여준다.

미세조류의 생물연료생산성은 생물질생산량뿐아니라 세포내 기름질함량에도 의존된다.

우리는 생물질생산성에 큰 영향을 미치는 0~200mmol/L범위의 NaCl농도구간에서 세포내 기름질함량변화를 조사하였다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 45mmol/L이하의 NaCl농도에서 세포내 기름질함량은 대조

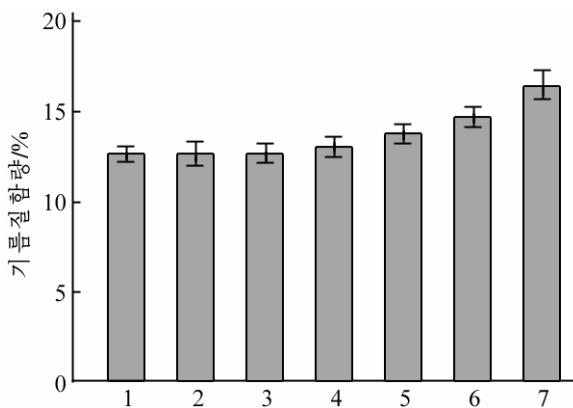


그림 2. *Chlorella vulgaris* YH703의 기름질함량에 미치는 NaCl의 영향

1-7은 NaCl농도가 각각 0, 15, 30, 45, 60, 100, 200mmol/L일 때

와 유의한 차이가 없었으나 그보다 높은 농도에서는 증가하였다. 200mmol/L의 NaCl 농도에서는 기름질함량이 16.5%로 높아졌으나 DCW가 135.1mg/L(대조에서 기름질함량과 DCW는 각각 12.7%, 380.8mg/L)로 작아진 결과 전체적인 기름생산성(생물질생산성×기름질함량/100)은 낮아졌다.

우의 결과는 민물미세조류 *Chlorella vulgaris* YH703의 배지에 NaCl을 30mmol/L 되게 첨가할 때 생물질생산성이 1.3배로 증가하면서도 세포내 기름질함량에서는 큰 변화가 없다는것을 보여준다. NaCl이 200mmol/L 이상 포함된 배지속에서의 세포내기름유도 효과는 더 검토해보아야 한다.

맺 는 말

1) *Chlorella vulgaris* YH703의 배지에 NaCl을 30mmol/L 되게 첨가하였을 때 생물질생산성이 1.3배로 높아졌다.

2) NaCl을 45mmol/L이하로 첨가할 때 *Chlorella vulgaris* YH703의 기름질함량에서는 변화가 없었다.

참 고 문 헌

- [1] K. Chokshi et al.; Bioresour. Technol., 180, 161, 2015.
- [2] O. Osundeko et al.; Biomass Bioenergy, 56, 284, 2013.
- [3] I. Pancha et al.; Bioresour. Technol., 156, 146, 2014.
- [4] I. Pancha et al.; Bioresour. Technol., 189, 341, 2015.
- [5] P. J. B. Williams et al.; Energy Environ. Sci., 3, 554, 2010.
- [6] L. Xia et al.; Bioresour. Technol., 161, 402, 2014.
- [7] H. Yang et al.; Bioresour. Technol., 172, 131, 2014.

주체107(2018)년 10월 5일 원고접수

Effect of NaCl on the Biomass Productivity of Microalgae *Chlorella vulgaris* YH703

Ri Yun Chol, Yun Chol Jin and Hwang Kum Ok

Freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* YH703 grown under cultivation medium with 30mmol/L NaCl produced 1.3 times as much biomass as control, but the cell lipid content did not increase.

Key words: microalgae, biofuel, biomass productivity, *Chlorella vulgaris*