

## 몇가지 토착종 미세조류의 분리와 기름생산성 평가

황금옥, 윤철진

오늘날 여러가지 공업 및 농업, 도시오수에서 미세조류를 대량 배양하여 담수자원과 강 하천오염을 방지하면서 먹이첨가제, 화장품첨가제, 의약품첨가제, 생물연료 등을 동시에 생산하는 지속적인 생태순환형생산체계에 대한 연구가 광범히 진행되고있으며 수많은 미세조류종들이 탐색분리되고 시범배양기지들이 꾸려지고있다.[3, 4, 6]

대량배양을 위한 미세조류를 선정하는데서 해당 지역의 기후풍토에 적응되고 배양을 쉽게 조절할수 있으며 목적하는 물질함량이 높은 토착종을 선발하는것이 선차적요구이다.[3]

우리는 미세조류에 의한 생물연료생산체계를 확립하기 위하여 몇가지 토착조류종을 순수분리하고 그것의 기름생산성을 평가하였다.

### 재료와 방법

재료 우리 나라 토착미세조류종분리원천으로는 대중저수지(평양시 력포구역 대현리), 마전수역(함경남도 함흥시), 평안남도 개천시 구읍리, 수풍호주변지역(평안북도 창성군읍)의 우물 및 바다물시료를 리용하였다.

미세조류종의 순수분리와 동정 단세포조류종의 순수분리는 선행연구자료[7]에 준하여 평판분리법으로 진행하였다. 먼저 미세조류가 들어있는 시료를 현미경(《XSP-5C》, 600배)으로 검사하여 필요한 종이 있는가를 확인한 다음 예비배양을 진행하였다. 다음 예비배양한 액을 멸균수가 들어있는 시험관계렬에서 10 000배정도 희석하여 희석액을 평판배지에 0.05mL씩 접종하고 23~27℃의 온도와 5 000~8 000lx의 빛세기조건에서 배양한 다음 나타난 단세포조류종들의 형태학적 및 배양학적특성을 조사하여 선행연구자료들[1, 5, 7]과 비교, 동정하였다.

미세조류의 배양 일반적으로 미세조류배양의 표준배지로 리용되고있는 BG-11[1]배지를 조류배양에 리용하였으며 배지에 페니실린을 넣어 랍조류의 성장을 억제시켰다.

분리한 조류종들을 BG-11배지(액체)가 3L 들어있는 5L 투명수지통에 일정한 량씩 각각 접종한 다음 23~27℃의 온도와 8 000~10 000lx의 빛세기조건에서 하루에 10번정도씩 흔들어주면서 7~14일정도 배양하였다.

미세조류속의 기름함량은 선행방법[2]으로 분석하였다.

### 결과 및 논의

#### 1) 토착미세조류종의 순수분리

시료로부터 선발된 단세포조류종들을 대상으로 형태학적특성과 배양특성들을 조사하고 선행연구자료[1, 5, 7]와 비교하여 록조류 5종, 규조류 1종을 동정하였다.(표 1)

표 1. 분리된 단세포조류종들의 동정결과

조류종번호	크기/μm	세포모양	색갈	운동성	동정결과
No. 1	3~5	구형	황록색	—	<i>Chlorella vulgaris</i>
No. 2	(18~24)×(9~14)	납작한 타원형	록색	+	<i>Platymonas subcordiformis</i>
No. 3	2~4	구형	록색	—	<i>Nannochloris oculata</i>
No. 4	(12~23)×(2~3)	방추형	황갈색	—	<i>Nitzschia closterium</i>
No. 5	6~10 100~500	알모양, 타원모양 포도송이, 딸기모양	록색	—	<i>Botryococcus braunii</i>
No. 6	(4~6)×(1~2)	쪼각달모양	록색	—	<i>Scenedesmus obliquus</i>

+ 있음, — 없음

분리동정된 *C. vulgaris*, *P. subcordiformis*, *Nan. oculata*, *Nit. closterium*, *S. obliquus*는 현재 세계적으로 생물연료생산에 많이 이용되고있고 우리 나라에도 이미 기재되어있는 종들이다. 그러나 *B. braunii*는 기름함량이 높은것으로 알려져있지만 아직까지 우리 나라에서 이 조류를 분리하였다는 자료가 제기된것이 없다.

표 1에서 보는바와 같이 No. 5조류종은 형태학적특성이 기름함량이 가장 높은 미세조류종으로 알려진 *B. braunii*와 같았다. 이로부터 우리 나라에도 *B. braunii*가 토착되어 생활하고있다는것이 확인되었으며 이 조류종을 순수분리하였다. *Botryococcus*속은 분류학적으로 녹조문(Chlorophyta) 푸른알말목(Chlorococcales) 포도알말과(Oocystaceae)에 속한다.[7]

## 2) 몇가지 미세조류의 기름생산성

일반적으로 미세조류에 의한 생물연료생산에서 기름생산성은 다음의 계산식[6]으로 평가한다.

$$\text{기름생산성} = \frac{\text{기름함량}}{100} \times \text{생물량생산성} \quad (1)$$

여기서 생물량생산성은 하루에 생성된 조류의 생물량으로서 이론적으로 계산하면

$$\text{생물량생산성} = \frac{\text{초기접종량}}{\text{생물량2배증가시간}} \times 2 \quad (2)$$

로 표시되는데 단위는 배양액 1L당 하루에 증가된 생물량(g/(L·d))으로 표시된다.

*B. braunii*를 비롯한 몇종의 미세조류는 무리체를 형성하므로 피알계산판에서 세포수를 측정하기가 힘들다. 그러므로 분광광도계(《DU730》)에서 흡광도를 측정하여 생물량을 계산하였다. 이때 배양물의 흡광도(OD<sub>660</sub>)와 조류세포의 마른물질농도(g/L)사이의 관계를 나타내는 계산식을 작성하여 이용하였다.(표 2)

표 2. 몇가지 조류종에서 배양액의 흡광도값과 마른조체질량사이 관계식

조류명	관계식
<i>C. vulgaris</i>	$y=0.475x-0.042$
<i>P. subcordiformis</i>	$y=0.682x+0.017$
<i>Nan. oculata</i>	$y=0.459x-0.029$
<i>Nit. closterium</i>	$y=0.755x^*+0.014$
<i>B. braunii</i>	$y=0.615x+0.029$
<i>S. obliquus</i>	$y=0.469x-0.017$

y는 조체의 마른질량(g/L), x는 OD<sub>660</sub>, x\*은 OD<sub>440</sub>

BG-11배지에서 배양한 배양물을 원심분리(3 000r/min, 10min)하여 세포들을 모으고 증류수로 세번 세척하여 얻어진 생조체를 각이한 비율로 희석한 다음 미세조류의 종류에 따라 OD<sub>660</sub>값이 0.2~0.8사이에 놓이도록 희석체렬을 만들고 흡광도를 측정하였다.

다시 원심분리하여 조체를 모아 105℃에서 향량이 될 때까지 말리워 마른질량을 측정한 다음 배양액의 흡광도와 마른생물질량사이관계식

을 작성하였다.

*Nit. Closterium*은 규조류에 속하므로  $\lambda=440\text{nm}$ 에서 흡광도값을 측정하였다.[3, 4]

이러한 관계식을 리용하면 적은 량의 배양액을 가지고 간단하면서도 정확히 미세조류의 생물량증가를 평가할수 있다.

다음으로 순수분리한 조류종들의 기름함량과 생물량2배증가시간을 보았다.(표 3)

표 3에서 보는바와 같이 *B. braunii*, *P. subcordiformis*, *Nit. closterium*에서 기름함량이 24.9, 18.9, 14.5%로서 제일 높았으나 생물량2배증가시간은 4~7일로서 매우 길었다. 반면에 *C. vulgaris*, *Nan. oculata*, *S. obliquus*에서는 생물량2배증가시간이 약 20h로서 매우 짧고 기름도 상당한 량 들어있었으며 특히 *Nan. oculata*는 17.2%라는 많은 량의 기름을 포함하고있었다.

조류종마다 해당 종에 적합한 배지와 배양조건이 있으며 이에 따라 기름생산성이 차이나지만 우리는 몇가지 조류종들의 일반적인 기름생산성을 비교평가하기 위하여 표준미세조류배양배지인 BG-11에서 배양하면서 기름함량과 생산성을 평가하였다.

세포의 기름함량(%)과 생물량2배증가시간(d)을 측정한 다음 식 (1)을 리용하여 미세조류들의 기름생산성을 계산한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 몇가지 조류종의 기름생산성

조류명	기름생산성 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	상대비율 /%
<i>C. vulgaris</i>	0.19	100
<i>P. subcordiformis</i>	0.06	31.5
<i>Nan. oculata</i>	0.38	200.0
<i>Nit. closterium</i>	0.07	36.8
<i>B. braunii</i>	0.07	36.8
<i>S. obliquus</i>	0.25	131.6

표 3. 몇가지 조류종의 기름함량과 생물량2배증가시간

조류명	기름함량 /%	생물량2배 증가시간/h
<i>C. vulgaris</i>	8.6	20
<i>P. subcordiformis</i>	18.9	145
<i>Nan. oculata</i>	17.2	22
<i>Nit. closterium</i>	14.5	98
<i>B. braunii</i>	24.9	168
<i>S. obliquus</i>	10.3	20

표 4에서 보는바와 같이 *C. vulgaris*의 기름생산성을 100으로 보았을 때 *Nan. oculata*, *S. obliquus*는 기름생산성이 각각 200, 131%로 높았다. *B. braunii*와 *P. subcordiformis*, *Nit. closterium*은 기름함량은 높지만 세대시간이 상대적으로 길기때문에 기름생산성이 매우 낮았다.

토착미세조류종들인 *Nan. oculata*, *S. obliquus*, *C. vulgaris*는 증식속도와 기름생산성이 비교적 높으며 우리 나라에서 이미전부터 여러가지 집짐승이나 물고기 먹이로 많이 배양리용되므로 생물연료생산을 위한 적합한 조류종이라고 볼수 있다. 그러므로 여러 종들의 기름함량과 생물량생산성을 높이기 위한 배양방법들이 더 연구되어야 한다.

## 맺 는 말

1) 기름생산성이 높은 6종의 우리 나라 토착미세조류종 *C. vulgaris*, *P. subcordiformis*, *Nan. oculata*, *Nit. closterium*, *B. braunii*, *S. obliquus*를 분리하였다.

2) *Nan. oculata*, *S. obliquus*, *C. vulgaris*의 기름생산성은 하루에 각각 0.38, 0.25, 0.19g/L로서 여러종가운데서 비교적 높다.

## 참 고 문 헌

- [1] 천승준 등; 바다가양식용먹이생물배양, 공업출판사, 1~102, 1992.
- [2] Yimin Chen; *Analytica Chimica Acta*, **724**, 67, 2012.
- [3] Ashish Bhatnagar et al.; *Applied Energy*, **88**, 3425, 2011.
- [4] Timm Holtermann; *Applied Energy*, **88**, 1906, 2011.
- [5] F. E. Round; *The Biology of Algae*, Edwind Arnold, 278, 1976.
- [6] Melinda J. Griffiths; *Journal of Applied Phycology*, **21**, 493, 2009.
- [7] 华汝成; 单细胞藻类的培养与利用, 农业出版社, 1~453, 1986.

주체105(2016)년 5월 5일 원고접수

**The Isolation of Several Indigenous Microalga and  
Evaluation of Their Lipid Productivity**

*Hwang Kum Ok, Yun Chol Jin*

We isolated six species of indigenous microalga having high capability of lipid production, that is, *C. vulgaris*, *P. subcordiformis*, *Nan. oculata*, *Nit. closterium*, *B. braunii* and *S. obliquus* to evaluate their lipid productivity.

Key words: microalgae, lipid productivity, biofuel