

## 쑥 추출액을 이용한 *Microcystis aeruginosa* 제거 및 성장억제 연구

최희정<sup>†</sup>

가톨릭관동대학교 보건환경학과

### Removal and Regrowth Inhibition of *Microcystis aeruginosa* using *Artemisia asiatica* Extracts

Hee-Jeong Choi<sup>†</sup>

Department of Health and Environment, Catholic Kwandong University  
(Received 9 March 2017, Revised 13 June 2017, Accepted 11 July 2017)

#### Abstract

*Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) is a cyanobacterium species that can form harmful algal blooms in freshwater bodies worldwide. The use of *Artemisia asiatica* extracts to control *M. aeruginosa* inhibition will be environmentally friendly and promising. *Artemisia asiatica* extracts removed successfully upto 88% of *M. aeruginosa* pH 8 at 25 °C of temperature. These results was indicated that the amount of 2.24 g/L *Artemisia asiatica* extracts was removed 1g dryweight/L of *M. aeruginosa*. The kinetic data showed substrate inhibition kinetics and maximum growth rate was obtained when the *M. aeruginosa* was grown in medium containing 2.5 g/L of initial concentration of *Artemisia asiatica* extracts. In the various growth control models, Luong model showed the highest correlation coefficient of 0.9916. Therefore, the Luong model was the most suitable control model for the growth control of *M. aruginosa* using *Artemisia asiatica* extracts. In conclusion, the growth control of *M. aruginosa* using *Artemisia asiatica* extracts can be applied in the field without controlling the temperature and pH of rivers and streams, and it is possible to control the growth of *M. aruginosa* efficiently in a short time. The natural extract, *Artemisia asiatica* extracts, can be a promising inhibition due to its high efficiency and low dose requirements.

**Key words** : Algal blooms, *Artemisia asiatica* extracts, Cyanobacterium, Inhibition, *Microcystis aeruginosa*, Water Treatment

## 1. Introduction

공중 보건에 유해한 조류 번식 (Harmful Algal Blooms, HABs)과 HABs 관련 질병의 중요성에 대한 인식이 커지고 있다. 최근 들어 HABs 는 전 세계 해안지역에 급격하게 증가하고 있으며, 점점 등장하는 빈도 수가 증가하고 있고, 강도도 더 심해지고 있다 (Gilbert et al., 2005). 이러한 현상에 대해 여러 연구자들은 지구온난화와 유해조류의 대 번식은 밀접한 관련이 있다고 보고하고 있으나, 이에 대한 이견도 다양하게 존재하고 있다 (Ralston et al., 2011). 그러나 자연 환경 요인 (허리케인, 지진, 해일 및 태풍 등)과 인위적인 요인 (부영양화, 해양 운송 및 양식장의 증가) 및 기후 변화에 기인하여 HABs는 매우 빠르게 번식하여 수생 식물을 대량으로 폐사시키거나 수생태계를 파괴하는 독성을 유발할 수 있다는 데에는 이견이 없다 (Badjeck et al., 2010). 따라서 HABs 관련 노출 및 질병에 대한 공중 보건

감시, 연구 및 홍보가 진행되지 않을 경우 HABs 관련 질병의 사례 수가 향후 10 년간 계속 증가 할 것으로 예상된다 (Grattan et al., 2016; Ralston et al., 2011).

최근 우리나라에서도 여러 가지 요인으로 인하여 해마다 조류가 비정상적으로 증가하고 있으며, 이로 인하여 전국의 강과 하천에는 수질이 많이 악화되어 가고 있어, 생태계를 위협하고 있다. 국내에서 발생하는 조류는 계절별로 가을부터 봄까지는 규조류, 늦봄부터 초여름까지는 녹조류 그리고 여름부터 가을까지는 주로 남조류가 우점을 이루고 있다. 보고에 의하면 한강은 *Anabaena*, 낙동강은 *Microcystis*가 우점종을 이루고 있다 (Choi, 2016). 우리나라의 소양호와 대청호에서 여름철에 빈번히 발생하는 *Anabaena*는 Filamentous Cyanobacteria로서 질소고정 능력을 가지고 있으며, *Mosquiro fern* 등의 식물과 공생하는 경우 신경계통의 독성물질을 생산할 수 있으며, Geosmin 3-MIB를 생산한다 (Hallengraeff, 2010). 지오스민은 냄새가 강해 5 ppt의 농도에서도 냄새를 느낄 수 있어 수돗물의 쾌적성을 떨어뜨린다. 그러나 현재 까지 알려진 독성은 없고 휘발성이 강해, 물을 끓이면 쉽게 제거된다. 반면, 남조류인 *Microcystis* 는 동물 실험에서 급성 간 손상 가능성 및 간암과 관련된 것으로 보고 된 *Microcystin*을 발생한다 (Paerl, 2012). *Microcystin*에 의한 피해는 1996년 브라질, 1931년 오하이오 그리고 남중국에

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
hjchoi@cku.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 발생하였으며, 이에 따라 World Health Organization (WHO)는 Microcystis로 인하여 발생하는 독성을 줄이고자 음용수의 Microcystin 함량을 1 µg/L 이하로 규정하였다 (Grattan et al., 2016; Ralston et al., 2011). 이러한 독성을 함유하고 있는 남조류는 보편적으로 하천이나 호수 등 담수에서 사는 Cyanobacterium이며, 전 세계적으로 널리 분포되어 있어 반드시 제거해야 할 유해 독성 조류이다.

이러한 유해 조류를 제거하기 위해 물리적, 화학적 그리고 생물학적 방법의 연구 등이 많이 진행되고 있다 (Chen et al., 2012; Choi, 2017; Jin et al., 2017; Meullemiestre et al., 2016; Wu et al., 2012). 그러나 이러한 초음파와 원심 분리 등 물리적 방법과 황산구리, 과산화수소 그리고 오존 처리 등의 화학적 방법은 처리효율과 효용성이 떨어지며, 화학약품을 사용했을 경우 생태계에 미치는 독성과 내성 발생에 대한 문제점 등이 커다란 단점이 있다 (Pei et al., 2014). 국내에서 최근에 가장 많이 사용하는 방법은 점토광물을 살포하는 방법이다. 그러나 이러한 방법 또한 처리효율이 낮고, 처리 비용이 많이 든다 (Choi, 2016; Nakai, 2000; Sengco and Anderson, 2004). 최근에 A회사는 밤껍질에서 추출한 탄닌과 제올라이트를 섞어 액체 조류 제거제를 개발하여 현장에 투입하여 효과를 거두었으나, 조류 제거제 생산비용은 1t에 1,200만원이며, 작은 호수 여러 개가 있는 골프장 한 곳의 녹조제거를 위해서는 연간 1억원의 비용이 필요하다. 또한 넓은 면적의 하천이나 저수지, 큰 댐에 사용하기에는 엄청난 비용이 발생한다 (Kang, 2014). 따라서 생태계에 악영향을 미치지 않고 저비용, 고효율의 환경 친화적인 조류 제어제의 개발이 필요하다.

쑥 (*Artemisia princeps* var. *orientalis*)은 국화과 (Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 현재까지 보고된 400여종의 *Artemisia* 속 식물 가운데 300 여종이 국내에 자생하고 있다. 국내에서 자생하는 300여종의 쑥은 재배지역에 따라 구성 성분 및 효능에 차이를 보이고 있다 (Choi and Ha, 2014). Bora and Sharma (2011)은 *Artemisia asiatica* 잎의 추출물이 *Bacillus subtilis*의 성장을 억제한다고 하였으며, Melguizo et al. (2014)는 *Artemisia vulgaris*가 함유하고 있는 플라보노이드 성분이 항산화 활성 기능을 가지고 있다고 보고하였다. 따라서 본 연구는 생태계에 영향을 미치지 않은 환경 친화적인 쑥 추출액(*Artemisia asiatica* extracts)을 이용하여 시아노박테리아의 일종이며 독성 유해조류인 *Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*)의 성장제거 실험을 하고자 하였으며, 이와 더불어 현장적용 가능성을

확인하고자 하였다.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 *Microcystis aeruginosa* 배양

본 연구는 우리나라 관리대상 남조류 4종 (*Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*) 중에서 가장 광범위하게 우점종을 차지하고 있는 *M. aeruginosa*를 쑥 추출액을 이용하여 성장제거 및 제거 실험을 하였다. *M. aeruginosa* (KMMCC-973)은 JM배지를 이용하여 25 ± 1 °C 온도의 항온기에서 5일간 증식하여 사용하였다. 미세조류 배양을 위하여 배양기의 광원은 LED (Light Emitting Diode)를 사용하였고, LED에 공급되는 전원은 모델 FP-60-12 파워 공급기 (AD & Lighting, Suwon, Kyonggi-Do, Korea)를 사용하였다. 모든 광원은 위에서 아래로 공급하였으며, LED는 white 색상, 조도는 3,000 lx, 광주기는 16L:8D 그리고 pH 7에서 배양하였다. 구체적인 배양조건과 JM배지의 성분은 Table 1에 나타내었다.

### 2.2 쑥 추출액 (*Artemisia asiatica* extracts)

쑥 추출액은 건조하지 않은 10 g의 쑥을 50 % 에탄올 200 mL에 넣고 실온에서 24시간 셰이커로 교반을 시켜 추출 하였다. 추출한 추출물은 0.45 µm (Whatman)의 멤브레인 필터로 여과한 후 회전 증발기 (EYELA N-1000, Rikakkai Co., Ltd. Japan)로 50 °C 이하에서 증발시켰다. 에탄올을 증발시킨 후, 쑥 추출물을 *M. aeruginosa*의 성장제거 실험에 사용하였다. 선행연구에 의하면 50%의 에탄올을 추출용매로 사용하여 쑥을 추출할 경우 수율이 가장 높았으며, 이는 쑥잎에 함유된 소수성인 왁스(wax), 지방, 클로로필은 물론 친수성의 배당체, 단백질, 탄수화물이 고루 추출된 결과에 기인한 것으로 볼 수 있다 (Choi and Ha, 2012).

### 2.3 실험방법

실험은 Batch 형식으로 실행하였으며, *M. aeruginosa* 배양조건과 비슷하게 LED는 white 색상, 조도는 3,000 lx, 광주기는 16L:8D로 하였다. 다양한 농도에 따른 *M. aeruginosa* 함유용액 1 L를 2 L 비이커에 넣고 쑥 추출액을 실험계획에 따라 다양한 양을 (0 ~ 25 g/L) 투입하여 마그네틱 바를 이용하여 교반하였다. 실험계획에 따라 쑥 추출액과 혼합한 *M. aeruginosa* 함유 용액 10 mL를 정해진 시간에 추출하

Table 1. Culture medium and cultivation conditions

Microorganism	Cultivation conditions	Culture medium
<i>Microcystis aeruginosa</i> (KMMCC-973)	25 °C, 120 h	JM
Culture mediums	Composition	
JM medium	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 4.0 g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2.48 g, MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O 10.0 g, NaHCO <sub>3</sub> 3.18 g, EDTAFeNa 0.45 g, EDTANa <sub>2</sub> 0.45 g, H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> 0.496 g, MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O 0.278 g, (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O 0.20 g, Cyanocobalamin 0.008 g, thiamine HCl 0.008 g, biotin 0.008 g, NaNO <sub>3</sub> 16.0 g, and Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O 7.2 g in 200 mL deionized water.	

여 2,500 rpm으로 20분간 원심분리한 후 상등액을 샘플링하여 *M. aeruginosa*의 제거율을 측정하였다. 시료 추출 후에 쑥 추출액의 농도와 *M. aeruginosa*의 비율이 변화하지 않았으므로 *M. aeruginosa* 또는 쑥 추출액은 보충하지 않았다. pH는 3~10까지 0.5 mol의 NaOH와 HCl을 이용하여 조절하였으며, 온도는 *M. aeruginosa*가 주로 여름철에서 초가을에 우점을 차지하는 조류임을 감안하여 15~35 °C도 까지 조절하였고, 실험 중 이산화탄소와 공기는 외부에서 공급하지 않았다. 실험은 2016년 8월부터 12월까지 진행하였으며, 총 5번 반복하여 평균 데이터를 사용하였다. 모든 실험은 하나의 매개변수 측정을 위하여 나머지의 매개변수는 고정하여 실험하였다.

2.4 분석방법

쑥 추출액에 함유되어 있는 무기 성분의 질적 양적 분석은 X-ray diffraction (XRD)는 (XRF-1500, Shimadzu, Japan)을 사용하여 분석하였다. 물속의 식물 플랑크톤 세포에 가장 많고, 보편적으로 분포하는 색소이며, 질소와 인 등과 함께 물의 부영양화의 지표가 되는 Chlorophyll-a (*Chl<sub>a</sub>*)은 500 mL를 GF/F (ø 0.45 µm, Whatman) 필터로 일정한 압력 (100 mmHg) 하에서 여과한 다음, 습기를 제거하고 90% 아세톤으로 암/냉장 하에서 12시간 동안 색소를 추출하여, 형광분석기 (TD-700, Turner Designs)를 이용하여 흡광도를 측정 후, *Chl<sub>a</sub>* 값으로 환산하였다. *Chl<sub>a</sub>*의 농도는 아래의 식 (1)을 이용하여 계산하였다.

$$C_{chl_a} = 13.95 \times OD_{665nm} - 6.88 \times OD_{649nm} \quad (1)$$

*M. aeruginosa*의 제거율은 *Chl<sub>a</sub>* 측정 후 아래의 식 (2)를 이용하여 계산하였다.

$$R = \frac{Chl_{a2} - Chl_{a1}}{Chl_{a2}} \times 100\% \quad (2)$$

여기서 *Chl<sub>a1</sub>*과 *Chl<sub>a2</sub>*는 각각 반응 전의 초기 농도와 반응 후의 농도이다. *M. aeruginosa*의 성장률은 아래와 같이 계산하였다.

$$\mu = \ln\left(\frac{X_1 - X_0}{t_1 - t_0}\right) \quad (3)$$

$\mu$ 는 성장률 (1/h),  $X_1$  및  $X_0$ 는 초기 및 일정 배양 시간 후의 *M. aeruginosa* 농도 (g/L), 그리고  $t$ 는 배양시간 (h)를 나타낸다.

*M. aeruginosa*의 성장력을 설명할 수 있는 제어모델은

Haldane, Double exponential, Edwards, Luong, Webb, Moser 그리고 Teissier의 모델 (Owhondah et al., 2016; Halmi et al., 2014; Debasmita and Rajasimman., 2013)을 이용하여 분석하였다. pH는 pH-meter (ISTEK, pH-20N)을 이용하여 측정하였다. 모든 실험은 5번 이상 반복 수행하여 평균 데이터를 사용하였다.

3. Results and Discussions

3.1 쑥 추출액의 특징

쑥 (*Artemisia asiatica*)의 주요 유기성분으로는 thujone, cineol, camphor, limonene, mycene, terpineol 등이 있으며, 기타 정유성분과 그 외 비타민 A, B1, B2, C와 철분 (Fe), 칼륨 (K), 칼슘 (Ca), 인 (P) 등 다양한 성분이 함유되어 있다 (Ryu, 2011). 특히 쑥의 정유성분에는 세균이나 바이러스균에 저항력이 있으며 인체내에서 항균, 항당뇨, 항염증 및 항암작용 등이 있으며, 기타 비타민류와 미네랄성분은 빈혈, 용통, 신경통 등에 효능이 있는 것으로 보고되고 있다 (Jeong et al., 2014). Melguizo et al. (2014)는 천연 쑥 (*Artemisia asiatica*)에서 추출한 정유성분이 미생물에 antibacterial activity를 보고하였으며, 쑥의 메탄올 추출물을 인체 암세포에 투여한 다른 임상실험 결과 암예방에 효과가 있는 것으로 보고되었다 (Choi and Ha, 2014). 실험에 사용된 쑥 추출액의 성분을 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 쑥 추출액에는 다양한 미네랄 성분이 함유되어 있지만 폴리페놀 성분이 313.13 mg 그리고 플라보노이드 성분이 367.69 mg이 함유되어 있음을 알 수 있다.

폴리페놀(polyphenol)은 식물에서 발견되는 화합물질의 일종으로서 분자 하나에 페놀 그룹이 두 개 이상 있는 것이 특징이며, 페놀은 벤젠의 수소원자 하나가 히드록시기로 치환된 것이며, 폴리페놀은 두 개 이상의 히드록시기로 치환된 것이다. 폴리페놀의 종류는 수천 가지가 넘는데 녹차에 들어 있는 카테킨, 포도주의 레스베라트롤, 사과 및 양파의 퀘세틴 등이 있다. 과일에 많은 플라보노이드와 콩에 많은 이소플라본도 폴리페놀의 일종이다. 폴리페놀은 강력한 항산화작용과 항염작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Melguizo et al., 2014). 따라서 쑥 추출액에 함유되어 있는 폴리페놀 성분은 *M. aeruginosa*의 제어작용에 도움이 될 것으로 예상된다.

3.2 다양한 매개변수가 미치는 영향

3.2.1 pH

여름철에 강이나 하천에서 볼 수 있는 대표적인 남조류인 *M. aeruginosa*는 강한 독성물질을 발생하는 유해 녹조

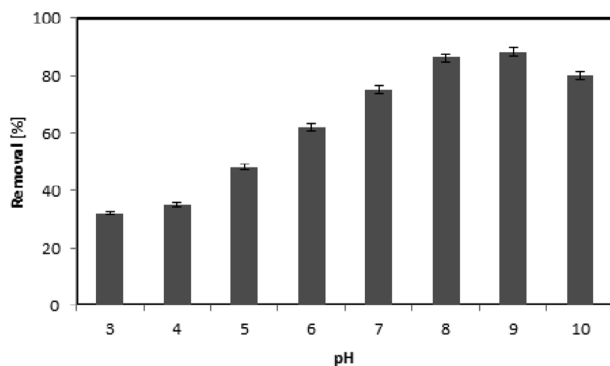
Table 2. A composition of Artemisia asiatica extracts (per 100 g)

Composition	Energy	Moisture	Protein	Carbohydrate	Dietary Fiber	Ca	P	Fe	Na
Content	71 kcal	72.8 g	5.1 g	21.2 g	8.9g	213.2 mg	62.7 mg	3.9 mg	10.6 mg
Compositions	K	Mg	Vitamin A	Vitamin B1	Vitamin B2	Niacin	Vitamin C	Polyphenol	Flavonoid
Content	982.6 mg	25.7 mg	3012.5 µg	0.18 mg	0.28 mg	078 mg	28 mg	312.13 mg	367.69 mg

이다. 일반적으로 건강한 하천의 pH는 6.5~8.5 정도이나 (Paerl, 2009), 정체된 하천의 경우 pH가 상승하면서 녹조 현상이 더욱 심해지고, 또한 녹조현상이 심해지면서 pH가 상승하는 악 순환이 일어난다. 녹조현상이 일어나는 강이나 하천의 pH는 약 알칼리인 pH 7.7~9.4로 알려져 있다 (Choi, 2016). 썩 추출액의 pH는 8.23로 측정되어 약 알칼리를 나타내었다. 썩 추출액을 이용한 *M. aruginosa* 제어에 pH가 미치는 영향을 알아보기 위하여 썩 추출액 농도 3 g/L, 초기 Chl-a의 농도 8 mg/m<sup>3</sup>을 이용하여 실험하였다. 국제연합 (UN)과 경제협력개발기구 (OECD) 등 국제기구에서 정한 국제기준의 물의 부영양의 기준에 따르면 Chl-a의 농도는 0~1 mg/m<sup>3</sup>는 극빈영양, 1~2.5 mg/m<sup>3</sup>는 빈영양, 2.5~8 mg/m<sup>3</sup>는 중영양, 8~25 mg/m<sup>3</sup>는 부영양 그리고 25 mg/m<sup>3</sup> 이상은 과영양으로 구분하고 있다 (Gilbert et al., 2005). 따라서 본 실험은 물의 녹조현상이 나타나는 부영양의 기준치에 맞추어 Chl-a의 초기 농도를 8 mg/m<sup>3</sup>로 하였다. 실험 결과 pH 3~4에서는 35% 이하의 낮은 제거율을 나타내었으나, pH 7~9의 범위에서는 70~88%의 높은 제거율을 나타내었다. 특히, pH 8과 9에서는 각각 86와 88%의 가장 높은 제거율을 나타내어 산성영역인 낮은 pH보다 알칼리 영역인 높은 pH에서 더 높은 제거율을 나타내었다. 이는 녹조현상을 수반하고 있는 하천이나 강 등의 pH가 7.7 이상인 점을 고려한다면 pH의 조절 없이 하천과 강에 현장 적용이 가능하여 썩 추출액을 이용한 *M. aruginosa* 제거에 커다란 장점으로 작용할 것으로 사료된다.

### 3.2.2 온도에 따른 제거율

썩 추출액을 이용한 *M. aruginosa* 제어에서 온도가 미치는 영향은 pH와 마찬가지로 중요한 매개변수이다. *M. aruginosa*가 등장하는 시기가 일반적으로 여름철에서 가을철이며, 이는 하천이나 강의 수온이 최소 22 °C 이상일 경우이다 (Choi, 2016). 따라서 온도에 따른 제거율은 썩 추출액을 이용한 녹조제어의 현장적용 가능 여부를 알 수 있는 중요한 매개변수이다. 실험은 여름철 하천과 강의 온도를 감안하여 15 °C에서 35 °C까지 변화를 주어 제어율을 측정하였다. 실험결과 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C 그리고



**Fig. 1.** Effect of pH in *Artemisia asiatica* cultured of *M. aruginosa* (*Artemisia asiatica* concentration: 3.0 g/L, concentration of Chl-a: 8 mg/m<sup>3</sup>, mixing rate: 100 rpm, mixing time: 3 h, T: 25 °C).

35 °C에서 각각 52 %, 80 %, 88 %, 90 % 그리고 91%를 나타내어 온도가 상승함에 따라 *M. aruginosa*의 제거율이 상승하였다. 이는 썩 추출액이 저온보다는 상온에서 분자 활동이 활발해짐에 따라 저온보다는 상온에서 *M. aruginosa*의 제거율이 증가한 것으로 사료된다. 이러한 결과는 녹조가 가장 심한 8월과 9월의 강과 하천의 온도가 일반적으로 22 °C 이상인 점을 감안한다면 녹조에 우점종을 차지하고 있는 *M. aruginosa*를 제어하기 위한 현장 적용에 유리하다. 일반적으로 온도가 상승함에 따라 녹조현상은 증가하기 때문에 상온에서 고효율의 녹조 제거율을 나타내는 썩 추출액은 녹조제거에 효율적으로 사용할 수 있는 장점이 있다.

### 3.2.3 썩 추출액의 양에 따른 제거율

썩 추출액의 농도를 최적화하는 것은 현장 적용시에 비용을 절감할 수 있고, *M. aruginosa*의 처리효율을 향상시킬 수 있어 매우 중요한 매개 변수이다. Fig. 3에 80% 이상의 *M. aruginosa* 제거율을 다양한 썩 추출액의 농도에 따라 나타내었다. 실험결과 *M. aruginosa* 제거율과 썩 추출액의 상관관계는 0.995으로 높은 상관관계를 나타내어 *M. aruginosa*의 농도가 증가할수록 *M. aruginosa* 제거를 위한 썩 추출액의 양도 증가하였음을 알 수 있다. 약 1 g dryweight/L의 *M. aruginosa*를 제거하는데 2.24 g/L의 썩 추출액이 필요하였다. 선행연구에 의하면 Choi (2016)은 카페인 농도 2.02 g/L에서 *M. aruginosa*의 성장제어를 확인하였다. 본 연구에서 사용한 썩 추출액은 약 2.24 g/L의 농도에서 *M. aruginosa*의 성장을 제어할 수 있어 카페인을 이용한 *M. aruginosa*의 성장제어보다는 높은 농도의 썩 추출액이 필요로 하나 썩 추출액은 카페인과 비교하여 생태계가 미치는 독성 영향이 낮아 환경 친화적이다. 또한 Chen et al. (2012)는 친환경적인 방법인 수생식물인 *Sagittaria trifolia* (벗풀) 추출액, *Lemna japonica* (개구리밥), *Stratiotes aloides* (자라풀과) 그리고 *Radix Astragali* (황기 뿌리) 추출액 등을 이용하여 *M. aruginosa*를 제거한 결과 6~8일 동안에 80~90%의 제거율을 보고하였다. 수생생물을 이용하여 *M. aruginosa*를 제거할 경우 생태계에 미치는 독성 영향은 낮으나 기간이 오래 걸리며 천적 수생생물의 성장을 위한 환경적 요인을 맞추기가 어려운 단점이 있다. 그러나 썩 추출액을 이용하여 *M. aruginosa*를 성장제어할 경우 다른 친환경적인 방법과 비교하여 단기간에 고효율의 제거율을 나타내어, 생태계에 미치는 독성이 없이 여름철 녹조현상에 따른 신속한 대처가 가능하다.

### 3.3 성장제어 모델

*M. aruginosa*의 성장제어에 작용하는 썩 추출액의 최대 농도를 알아보고자 여러 가지 성장모델을 이용하여 비교 분석하였다. 본 연구에서는 Moser, Tessier, Webb, Haldane, Edwards, Double exponential 그리고 Luong 모델과 같은 다양한 모델을 이용하여 썩 추출액이 *M. aruginosa*의 성장제어 미치는 영향을 분석하였다. 언급된 각각의 모델들은 수정된 Mond 방정식이며, 다양한 조건에 따라 경험식에 의해 매개

변수들을 업그레이드하여 Mond모델을 수정, 보완하였다. 즉, Luong 모델은 단일 제한 기질로 세포 성장의 기질 저해 동역학을 기술하였으며, Haldane 방정식은 억제 기질의 기질 저해 역학 및 생분해를 설명하기 위해 널리 사용되었고, Moser는 Monod의 모델을 매개 변수 (일반적으로)로 업그레이드하여 미생물 채택의 효과를 돌연변이에 의한 고정된 프로세스에 통합했다 (Halmi et al., 2014). 따라서 본 실험에서 다양한 제어모델을 이용하여 실험결과를 비교 분석한 이유는 실험데이터를 현장적용을 하기 위하여 보다 신뢰성 있는 데이터를 얻기 위함이다. 이러한 제어모델들을 이용하여 비교분석하는 것은 *M. aeruginosa* 성장률 데이터를 이용하여 동역학 모델의 매개변수의 초기 값을 지정하는데 매우 유용하기 때문이다.

Fig. 4에 쑥 추출액의 농도에 따른 *M. aeruginosa*의 비증식속도  $\mu$  ( $h^{-1}$ )를 나타내었다. 실험결과 쑥 추출액의 농도 2 g/L까지는  $\mu$ 가 증가하였으며, 2 g/L 이상의 쑥 추출액 농도에서는 현저하게 감소하였음을 알 수 있다.  $\mu$ 는 1 g/L에서 0.16 ( $h^{-1}$ ), 1.5에서 0.17 ( $h^{-1}$ ) 그리고 2 g/L 에서 0.18을 나타내어 1~2 g/L의 쑥 추출액 농도에서 증식속도가 현저하게 둔화되었음을 알 수 있었다. 수용액에서 쑥 추출액을 이용한 *M. aeruginosa*의 제거 실험에서  $\mu_{max}$ 는 2 g/L의 쑥 추출액 농도에서 0.18을 나타내었다. 이후  $\mu$  ( $h^{-1}$ )는 쑥 추출액의 농도가 증가함에 따라 지속적으로 감소하여 10 g/L의 쑥 추출액 농도에서는 0.02 ( $h^{-1}$ )로 감소하였으며 20 g/L에서는 0.01 ( $h^{-1}$ )로 감소하여 거의 사멸하였다. 낮은 농도의 쑥 추출액에서 *M. aeruginosa*의 증식이 일어나는 이유는 쑥 추출액에 폴리페놀 이외에 탄수화물, 인, 철, 칼륨, 마그네슘 등의 미네랄이 다량으로 함유되어 있어 폴리페놀의 함량이 낮은 농도에서는 *M. aeruginosa*의 증식을 제어하지 못한 것으로 사료된다. 이론적으로 계산해보면 폴리페놀의 함량이 약 6 mg/L 이상에서 *M. aeruginosa*의 성장제어가 나타나기 시작했다.

쑥 추출액이 *M. aeruginosa*의 성장제어에 미치는 영향을 알아보고자 다양한 제어 모델을 이용하여 실험 결과를 분석하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. Moser, Tessier, Webb, Haldane, Edwards, Double exponential 그리

고 Luong 모델의  $\mu_{max}$ 는 0.167~0.181을 나타내었으며, 상관계수인  $R^2$ 는 0.8997~0.9916를 나타내었다. 특히 Haldane는 다른 모델들과 비교하여 0.8997의 가장 낮은 상관계수를 나타내었으며, Luong모델은 0.9916의 가장 높은 상관계수를 나타내었다. 따라서 쑥 추출액을 이용한 *M. aeruginosa*의 성장제어를 분석한 제어모델은 Luong모델이 가장 적합하였다. 다양한 제어모델을 이용하여 분석한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Tessier, Moser 그리고 Webb은  $\mu_{max}$ 까지의 데이터를 이용하였으며, Haldane, Edwards, Double exponential 그리고 Luong 모델은 전체 데이터를 나타내었다. 모든 모델에서 2~2.5 g/L의 쑥 추출액의 농도에서  $\mu_{max}$ 을 나타내었으며, 그 이상의 농도에서는 *M. aeruginosa*의 비증식속도가 현저하게 감소하였음을 알 수 있다. 이러한 결과에 의거하여 실험 데이터를 현장 적용 시에 Luong 모델의 매개변수를 중심으로 수정, 보완할 예정이다.

Table 4에 다양한 방법을 이용한 *M. aeruginosa* 제어 방법 및 제어율을 나타내었다. *Microcystis*가 발생하는 독성 물질인 Microcystin은 펩티드 결합을 가지고 있으며, 일반적으로 *M. aeruginosa* 사멸시에도 세포밖으로 용출된다 (Chen et al., 2016). 따라서 *M. aeruginosa* 제거시에는 Microcystin이 세포밖으로 용출되지 않도록 주의할 해야 한다. 선행연구에 의하면 쑥 추출액은 Microcystin의 펩티드 결합에 작용하여 독성을 억제하는 효과가 있다고 한다 (Jeong et al., 2014; Corrêa-Ferreira et al., 2014). 즉, 쑥 추출액은 *M. aeruginosa* 제거 뿐만 아니라 이미 수중에 함유되어 있는 독성물질인 Microcystin의 독성억제 작용도 동시에 할 수 있다는 것이다. *M. aeruginosa*를 제거하기 위한 생물학적인 처리 방법은 물리적인 방법 또는 화학적인 방법과 비교하여 상대적으로 비용이 저렴하며, 환경 친화적이다 (Chen et al., 2016). 특히 수생식물을 이용한 *M. aeruginosa*의 제어 방법은 최근에 가장 많이 각광받고 있지만, 시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 자연하천이나 저수지 및 호소의 *M. aeruginosa*를 물리적, 화학적 방법으로 처리할 경우에는 pH와 온도 등에 영향을 많이 받으며, 최적조건을 맞추기는 쉽지 않다. 본 연구에서 사용한 쑥 추출액은 UV-activated persulfate과 Pine needle extracts와 비교하여 *M.*

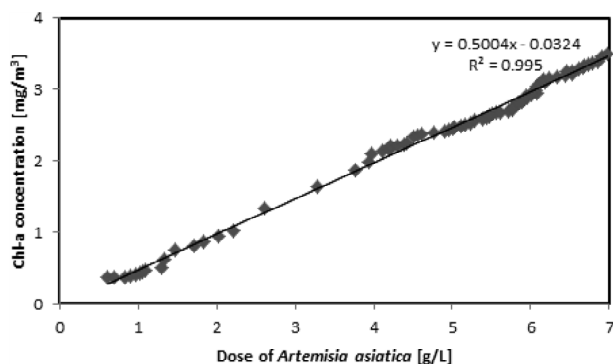


Fig. 3. Relationship between Chl-a concentration and dose of *Artemisia asiatica* extract (mixing speed: 100 rpm, mixing time: 3 h, pH: 7, T: 25 °C, Standard deviation varying  $\pm$  3%).

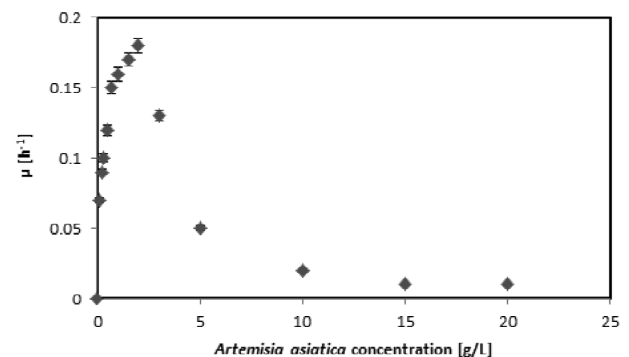
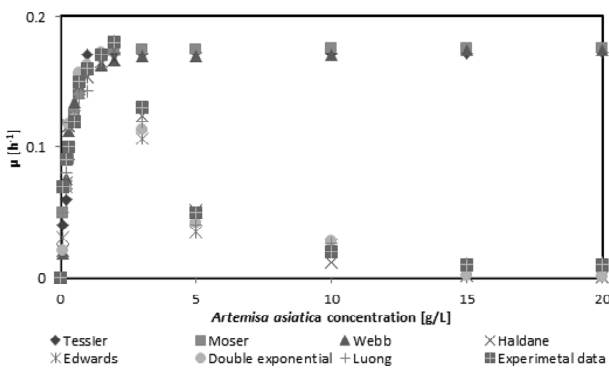


Fig. 4. Effect of *Artemisia asiatica* extracts concentration on the specific growth rate (mixing speed: 100 rpm, mixing time: 3 h, pH: 7, T: 25 °C, Standard deviation varying  $\pm$  3%).

**Table 3.** Estimated parameters of various substrate inhibition models

Model	Equation	Parameters	R <sup>2</sup>
Moser	$\mu = \mu_m S^n / (K_s + S^n)$	$n = 0.6732, K_s = 0.8245, \mu_m = 0.176$	0.9613
Tessier	$\mu = \mu_m [1 - \exp(-S/K_s)]$	$K_s = 0.5425, \mu_m = 0.172$	0.9245
Webb	$\mu = \{\mu_m S [1 + (S/K_i)]\} / \{K_s + S + (S^2/K_i)\}$	$K_i = 1.168, K_s = 0.3315, \mu_m = 0.169$	0.9357
Haldane	$\mu = \mu_m S / [(K_s + S) + (1 + S/K_i)]$	$K_i = 1.131, K_s = 1.123, \mu_m = 0.167$	0.8997
Edwards	$\mu = [\mu_m S / (K_s + S)] \exp(-S/K_i)$	$K_i = 4.314, K_s = 0.8173, \mu_m = 0.174$	0.9586
Double exponential	$\mu = \mu_m [\exp(-S/K_i) - \exp(-S/K_s)]$	$K_i = 4.576, K_s = 0.24, \mu_m = 0.179$	0.9542
Luong	$\mu = \mu_m S / (K_s + S) (1 - S/S_m)^n$	$S_m = 19.84, K_s = 0.7108, \mu_m = 0.181, n = 2.657$	0.9916

where  $\mu$  and  $\mu_m$  are the specific growth rate and maximum specific growth rate, respectively.  $S$ ,  $K_s$  and  $S_m$  are the limiting substrate concentration (*Artemisa asiatica* extracts in this study), the Monod half saturation constant and the maximum substrate inhibitory concentration at which no growth was observed, respectively.  $n$  is the constant which accounts the relationship between  $\mu$  and  $S$ .



**Fig. 5.** Specific growth rate by various substrate inhibition models (Standard deviation varying  $\pm 3\%$ )

*aeruginosa*의 제거율이 낮지만, 썩은 우리나라 전역에 어디서나 쉽게 구할 수 있고 가격도 매우 저렴하여 경제적이다. 그러나 아직까지 썩 추출액을 대량 사용하여 *M. aeruginosa*를 제거할 경우 하천이나 호소의 다른 미생물과 생태계에 미치는 영향은 조사되지 않았다. 따라서 현장적용을 위해서는 지속적인 연구 검토가 필요하다.

### 4. Conclusion

강과 하천에 여름철 녹조 현상의 우점종을 차지하고 있으며 Microcystin 독성을 함유하고 있는 *M. aeruginosa*의 생장을 썩 추출액을 이용하여 제어하고자 하였다. 이를 위하여 다양한 썩 추출액의 농도와 다양한 매개변수를 이용하여 현장 적용 가능성과 현장 적용시의 최적조건을 찾고자 하였다. 썩 추출액을 이용한 *M. aeruginosa*의 성장제어는 25 °C 이상, pH 8에서 88 % 이상의 높은 제거율을 나타내었다. 또한 1 g dryweight/L의 *M. aeruginosa*를 제거하기 위해서는 약 2.24 g/L 썩 추출액이 필요하였다. 최대 비증식속도는 2 g/L의 썩 추출액 농도에서 0.18 (h<sup>-1</sup>)을 나타내어 썩 추출액 농도 2 g/L까지는 *M. aeruginosa*의 생장을 제어하지 못했으나, 2 g/L 이상의 썩 추출액농도에서는 *M. aeruginosa*의 생장을 확실하게 제어할 수 있었다. 다양한 성장제어 모델은 Luong모델이 0.9916의 가장 높은 상관계수를 나타내어 썩 추출액을 이용한 *M. aeruginosa*의 성장제어를 분석한 제어모델은 Luong모델이 가장 적합하였다. 실험결과를 종합해 보면 썩 추출액을 이용한 *M. aeruginosa*의 성장

**Table 4.** Comparison of *Microcystis aeruginosa* removal by various materials

Materials	Conditions	Removal	Water soluble	Biodegradable	Cost (USD/g)	Disadvantage	Reference
UV-activated persulfate	2 h, 1500 mg/L	98.2%	Yes	No	0.82 ~ 1.13	Toxic to aquatic species High cost	Wang et al., 2016
Montmorillonite with Cu <sub>2</sub> O	pH 7, 3 h, 0.4 g/L	90.4%	No	No	0.16 ~ 0.62	Metal toxicity	Gu et al., 2016
Chitosan	pH 7, 7.31 mg/L	46.45%	No	Yes	0.11 ~ 0.34	insoluble in water	Pei et al., 2014
Saline extracts of <i>Monringa Oleifera</i> Lam seed	pH 7, 50 mg/L	78.9%	Yes	Yes	0.06 ~ 0.15	Long time Low removal rate	Carvalho et al., 2016
Polyphenol	pH 7, 7.5 mg/L	61%	Yes	Yes	0.18 ~ 0.24	High cost Low removal rate	Nakai et al., 2000
Methyltert-butyl ether	pH 6, 100 mg/L	85%	Yes	No	0.5 ~ 0.9	Toxic to aquatic species Damage cell intensity	Chen et al., 2009
Caffeine	pH 8, 2 g/L,	82%	Yes	Yes	0.07 ~ 0.13	Toxic to aquatic species	Choi, 2016
Pine needle extracts	pH 7, 2 g/L,	98%	Yes	Yes	0.01 ~ 0.05	-	Choi, 2017
<i>Artemisa asiatica</i> extracts	pH 7 ~ 8, 3 g/L,	91%	Yes	Yes	0.01 ~ 0.03	-	Present study

제어는 강과 하천의 온도와 pH 조절없이 현장적용을 할 수 있으며, 현장적용을 할 경우 짧은 시간에 효율적으로 *M. aeruginosa*의 성장을 제어할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 속 추출액이 대량으로 살포될 경우 하천이나 호소의 다른 미생물과 생태계에 미치는 역학관계는 아직 조사되지 않아서 현장적용을 위해서는 지속적인 연구 검토가 필요하다.

### Acknowledgments

This study was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2016005271).

### References

- Badjeck, M. C., Allison, E. H., Halls, A. S., and Dulvy, N. K. (2010). Impacts of Climate Variability and Change on Fishery-based Livelihoods, *Marine Policy*, 34, 375-383.
- Bora, K. S. and Sharma, A. (2011). The genus *Artemisia*: A Comprehensive Review, *Pharmaceutical Biology*, 49(1), 101-109.
- Carvalho, M. S., Alves, B. R. R., Silva, M. F., Bergamasco, R., Coral, L. A., and Bassetti, F. J. (2016). CaCl<sub>2</sub> Applied to the Extraction of *Moringa oleifera* Seeds and the Use for *Microcystis aeruginosa* Removal, *Chemical Engineering Journal*, 304, 469-475.
- Chen, L., Chen, J., Zhang, X., and Xie, P. (2016). A Review of Reproductive Toxicity of Microcystins, *Journal of Hazardous Materials*, 301, 381-399.
- Chen, J., Ma, J., Cao, W., Wang, P., Tong, S., and Sun, Y. (2009). Sensitivity of Green and Blue-green Algae to Methyl Tert-butyl Ether, *Journal of Environmental Sciences*, 21(4), 514-519.
- Chen, J. Z., Zhang, H. Y., Han, Z. P., Ye, J. Y., and Liu, Z. (2012). The Influence of Aquatic Macrophytes on *Microcystis aeruginosa* Growth, *Ecological Engineering*, 42, 130-133.
- Choi, Y. K. and Ha, B. J. (2014). Comparison of the Physicochemical Characteristics and Antibacterial Efficiencies of the Extracts obtained from *Artemisia princeps* var. *Orientalis*, *Korean Journal of Aesthetic and Cosmetology*, 12(5), 685-692. [Korean Literature]
- Choi, H. J. (2016). Inhibition of the Growth of Harmful Cyanobacterial Blooms, *Microcystis Aeruginosa* Using Caffeine, *Journal of Korean Society of Water Science and Technology*, 24(5), 111-122. [Korean Literature]
- Choi, H. J. (2017). Removal of *Microcystis aeruginosa* using Pine Needle Extracts, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 33(1), 8-14. [Korean Literature]
- Corrêa-Ferreira, M. L., Noleto, G. R., and Petkowicz, C. L. O. (2014). *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*: A Comparative Study of Infusion Polysaccharides, *Carbohydrate Polymers*, 102(15), 738-745.
- Debasmita, N. and Rajasimman, M. (2013). Optimization and Kinetics Studies on Biodegradation of Atrazine Using mixed Microorganisms, *Alexandria Engineering Journal*, 52(3), 499-505.
- Gilbert, P. M., Anderson, D. M., Gentien, P., Graneli, E., and Sellner, K. G. (2005). The Global, complex Phenomena of Harmful Algal Blooms, *Oceanography*, 18(2), 136-147.
- Grattan, L. M., Holobaugh, S., and Jr, J. G. M. (2016). Review: Harmful Algal Blooms and Public Health, *Harmful Algae*, 57, 2-8.
- Gu, N., Gao, J., Li, H., Wu, Y., Ma, Y., and Wang, K. (2016). Montmorillonite-supported with Cu<sub>2</sub>O Nanoparticles for Damage and Removal of *Microcystis aeruginosa* under Visible Light, *Applied Clay Science*, 132-133, 79-89.
- Hallegraeff, G. M. (2010). Review: Ocean Climate Change, Phytoplankton Community Responses, and Harmful Algal Blooms: A Formidable Predictive Challenge, *Journal of Phycology*, 46, 220-235.
- Halmi, M. I. E., Shukor, M. S., and Shukor, M. Y. (2014). Evaluation of Several Mathematical Models for Fitting the Growth and Kinetics of the Catechol-degrading *Candida parapsilopsis*: Part 2, *Journal of Environmental Bioremediation & Toxicology*, 2(2), 53-57.
- Jeong, D., Yi, Y. S., Sung, G. H., Yang, W. S., Park, J. G., Yoon, K. J., Yoon, D. H., Song, C., Lee, Y., Rhee, M. H., Kim, T. W., Kim, J. H., and Cho, J. Y. (2014). Anti-inflammatory Activities and Mechanisms of *Artemisia asiatica* Ethanol Extract, *Journal of Ethnopharmacology*, 152(3), 487-496.
- Jin, Y., Pei, H., Hu, W., Zhu, Y., Xu, H., Ma, C., Sun, J., and Li, H. (2017). A Promising Application of Chitosan Quaternary Ammonium Salt to Removal of *Microcystis aeruginosa* Cells from Drinking Water, *Science of the Total Environment*, 583, 496-504.
- Kang, C. S. (2014). Green Algae Removal, Technology, but costly, JoongAng Ilbo, <http://news.joins.com/article/15373104>, accessed July, 2014
- Melguizo, D. M., Diaz-de-Cerio, E., Quirantes-Pine, R., Švarc-Gajić, J., and Segura-Carretero, A. (2014). The Potential of *Artemisia vulgaris* Leaves as a Source of Antioxidant Phenolic Compounds, *Journal of Functional Foods*, 10, 192-200.
- Meullemiestre, A., Petitcolas, E., Maache-Rezzoug, Z., Chemat, F., and Rezzoug, S. A. (2016). Impact of Ultrasound on Solid-Liquid Extraction of phenolic Compounds from Maritime Pine Sawdust Waste. Kinetics, Optimization and Large Scale Experiments, *Ultrasonics Sonochemistry*, 28, 230-239.
- Nakai, S., Inoue, Y., Hosomi, M., and Murakami, A. (2000). *Myriophyllum spicatum*-released Allelopathic Polyphenols Inhibiting Growth of Blue-green Algae *Microcystis aeruginosa*, *Water Research*, 34(11), 3026-3032.
- Owhondah, R. O., Walker, M., Ma, L., Nimmo, B., Ingham, D. B., Poggio, D., and Pourkashanian, M. (2016). Assessment and Parameter Identification of simplified Models to describe the Kinetics of Semi-Continuous Biomethane Production from Anaerobic Digestion of Green and Food Waste, *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 39, 977-992.
- Paerl, H. (2009). Climate Change: A Catalyst for Global Expansion of Harmful Cyanobacterial Blooms, *Environmental*

- Microbiology Reports*, 1, 27-37.
- Paerl, P. (2012). Climate Change: Links to Global Expansion of Harmful Cyanobacteria, *Water Research*, 46, 1349-1363.
- Pei, H. Y., Ma, C. X., Hu, W. R., and Sun, F. (2014). The Behaviors of *Microcystis aeruginosa* Cells and Extracellular Microcystins during Chitosan Flocculation and Flocc Storage Processes, *Bioresource Technology*, 151, 314-322.
- Ralston, E. P., Kite-Powell, H., and Beet, A. (2011). An Estimate of the Cost of Acute Health Effects from Food- and Waste-Borne Marine Pathogens and Toxins in the USA, *Journal of Water Health*, 9(4), 680-694.
- Ryu, S. R. (2011) Study on the Manufacturing Process of *Artemisia asiatica* carbonized Organic Solution(Wormwood Acetic Acid) by Development of Carbonize Equipment, *Journal of Chosun Natural Science*, 4(1), 15-22.
- Sengco, M. R. and Anderson, D. M. (2004). Controlling Harmful Algal Blooms through Clay Flocculation, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51, 169-172.
- Wang, Z., Chen, Y., Xie, P., Shang, R., and Ma, J. (2016). Removal of *Microcystis aeruginosa* by UV-activated Persulfate: Performance and Characteristics, *Chemical Engineering Journal*, 300, 245-253.
- Wu, Z., Shen, H., Ondruschka, B., Zhang, Y., Wang, W., and Bremner, D. H. (2012). Removal of Blue-green Algae Using the Hybrid Method of Hydrodynamic Cavitation and Ozonation, *Journal of Hazardous Materials*, 235-236, 152-158