

금속이온에 의한 조류 응결에 관한 연구

Studies on the Flocculation of Algae with Metal Ions

박영재[†] · 이상수* · 조혜륜**

Yeong Jae Park[†] · Sang Soo Lee* · Hye Ryun Cho**

호서대학교 생명공학전공 · *배재대학교 생명공학과 · **한국원자력연구원 원자력화학연구부

Department of Biotechnology, Hoseo University

*Department of Life Science and Technology, Pai Chai University

**Nuclear Chemistry Research Division, Korea Atomic Energy Research Institute

(Received July 7, 2015; Revised August 12, 2015; Accepted August 24, 2015)

Abstract : Studies on the flocculation of algae using various metal ions were carried out by measurements of optical density(OD) and zeta potential. Cyanobacteria were used as algae. Flocculation efficiencies of cyanobacteria by an addition of metal ions were determined from OD values, and the effect of metal ions was greater in the order of $Al^{3+} > La^{3+} > Ho^{3+} > Fe^{2+} > Ca^{2+}$. Especially for trivalent metal ions, percentages of metal removed from cyanobacteria solutions on flocculation were measured, showing the same order as in flocculation efficiencies. Zeta potentials of cyanobacteria alone were measured with increasing the concentration, found to be all negative voltages, and were increased with increasing the concentration. The effect of pH on zeta potential of cyanobacteria solution was investigated. Below pH 5.5, the zeta potentials were steeply decreased with increasing pH, whereas in the range of $5.5 \leq pH \leq 10$ they were almost constant (-46 ± 1 mV) even with increasing pH. At a constant concentration of cyanobacteria ($A_{730}=0.25$), an increase in concentration of metal ions caused an increase in zeta potential of cyanobacteria solution, showing that the effect was greater in the order of $Al^{3+} > Ho^{3+} > La^{3+} \gg Mg^{2+} \geq Ca^{2+} \gg K^+$. At a constant metal concentration, zeta potentials were measured with increasing cyanobacteria concentration, showing that zeta potentials for K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} ions were negligibly changed, whereas those of Ho^{3+} and La^{3+} ions were decreased. Moreover, the effect of Ho^{3+} ion on decreasing zeta potential was smaller than that of La^{3+} ion. Al^{3+} ions showed quite a different behavior that with increasing cyanobacteria concentration the zeta potentials increased and decreased thereafter. Hydrolysis of Al^{3+} ions caused a difficulty to investigate coagulation or flocculation of cyanobacteria by measurement of zeta potentials.

Key Words : Algae, Cyanobacteria, Coagulation, Flocculation, Zeta Potential

요약 : 본 연구에서는 시아노박테리아 배양액을 대상으로 여러 종류의 금속이온의 첨가에 의한 응집 및 응결 효과를 흡광도 또는 제타포텐셜 측정을 통하여 조사하였다. 흡광도 측정으로부터 얻은 시아노박테리아의 응결효율은 $Al^{3+} > La^{3+} > Ho^{3+} > Fe^{2+} > Ca^{2+}$ 순으로 높았으며, 특히 동일한 전하량을 갖는 +3가 금속이온의 경우, 응결 시 수반되는 금속 제거율을 측정할 결과, $Al^{3+} > La^{3+} > Ho^{3+}$ 순으로 응결효율과 상응하는 결과를 얻었다. 시아노박테리아의 제타포텐셜은 음의 값을 나타냈으며, 그 농도가 증가할수록 제타포텐셜 값도 증가하였다. 또한, 시아노박테리아 용액의 pH를 증가시킬 때 $pH < 5.5$ 이하에서는 빠르게 제타포텐셜 값이 감소하였으나, $5.5 \leq pH \leq 10$ 범위에서는 거의 일정한 제타포텐셜 값(-46 ± 1 mV)을 보였다. 일정한 시아노박테리아의 농도($A_{730} = 0.25$)에서 금속이온의 농도에 따른 제타포텐셜 증가 효과는 $Al^{3+} > Ho^{3+} > La^{3+} \gg Mg^{2+} \geq Ca^{2+} \gg K^+$ 순으로 나타났다. 일정한 금속이온 농도에서 시아노박테리아의 농도에 따른 제타포텐셜 변화를 측정할 결과, K^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 이온의 경우 시아노박테리아의 농도가 증가하더라도 제타포텐셜의 변화가 미미하였다. 반면에, +3가 이온 중 Ho^{3+} 와 La^{3+} 이온의 경우에 시아노박테리아의 농도가 증가할수록 제타포텐셜 값이 감소하였으며, 감소율 면에서 Ho^{3+} 이온이 La^{3+} 이온 보다는 작게 일어났다. 이와는 달리, Al^{3+} 이온의 경우에는 시아노박테리아의 농도가 증가함에 따라 제타포텐셜 값이 증가하다가 감소하였다. Al^{3+} 이온은 가수분해 중합체 생성의 영향으로 제타포텐셜 측정만으로는 응집 내지 응결 효과를 해석하기가 어려웠다.

주제어 : 조류, 시아노박테리아, 응집, 응결, 제타포텐셜

1. 서론

해마다 발생하는 녹조 현상을 해결하기 위해 국내 및 해외에서는 조류(algae)관리에 대한 체계적인 정책 수립과 더불어 조류관련 연구들이 지속적으로 이루어지고 있다. 한 시적으로 발생하는 녹조 때문에 수자원을 관리하고 운용하는데 많은 비용이 소요될 뿐만 아니라, 하천 및 호소 생태계에 미치는 영향, 그리고 상수원 오염에 대한 국민의 불안

감 등을 고려할 때 경제적 손실이 매우 크다 하겠다. 현재 개발된 녹조제거 기술은 소규모 호소에 국한해서는 그 적용 효과가 확인된 상태이나, 대규모 하천에 대해서는 미검증된 상태이다. 이에 국내에서는 환경부를 주관부처로 미래부 및 국토부를 포함한 범부처 추진사업으로 2014년부터 4년간 ‘녹조로부터 안전한 상수 공급’을 위하여 녹조 발생부터 정수처리까지 전주기별로 실질적인 현장적용이 가능한 기술개발을 추진하고 있다.

[†] Corresponding author E-mail: nyjpark@naver.com Tel: 041-540-9641 Fax: 041-540-6231

한편으로는, 남조류를 대량으로 배양하고 배양액으로부터 남조류를 수확하여 대체 에너지인 바이오 디젤을 얻는 연구가 활발히 진행되고 있다. 바이오 디젤을 생산하기 위해서는 우선 남조류를 경제적으로 수확(harvesting)하는 방법을 연구하고 개발할 필요가 있다.¹⁻⁵⁾ 남조류를 수확하는 방법으로는 원심분리법, 중력을 이용한 침강법, 부유법, 여과법 그리고 응집법 등이 있다.⁶⁾

조류세포가 음전하를 띠고 있다는 것을 Ives⁷⁾가 처음으로 밝힌 이후로, 조류 제거 또는 수확을 위한 하나의 방법으로서, 양전하를 띤 금속이온을 응집제로 사용하여 조류의 음전하를 중화시킴으로써 응집(coagulation) 및 응결(flocculation)을 유도하고 궁극적으로 녹조를 침강(sedimentation)시키는 연구들을 활발히 진행하고 있다.⁸⁻¹¹⁾ 일반적으로 화학 응집제로 많이 사용되는 +3가의 알루미늄 이온이나 +3가의 철 이온이 +1가 및 +2가의 금속이온보다는 응집 효과가 크다고 알려져 있다. 즉, 전하량이 응집에 영향을 준다는 응집 이론의 타당성을 보여주는 것이다. 남조류는 첨가하는 반대 전하를 가진 응집제에 의하여 전하중화(charge neutralization)가 일어나서 응집(coagulation)이 되면 제타포텐셜의 절대값이 감소하게 된다. 최근에 제타포텐셜의 측정결과를 바탕으로 응집을 관리하는 방법에 대하여 많은 관심과 연구가 수행되고 있다.¹²⁻¹⁴⁾

본 연구에 앞서 예비실험으로 황토, TiO₂ 분말, 벤토나이트 등을 사용하여 남조류의 응집 효과를 조사한 결과 별다른 큰 효과가 없었다. 즉, 입자와 남조류 간의 물리적인 상호작용만으로는 남조류의 응집에 한계가 있음을 알 수 있었다.

본 연구에서는 응집제의 양전하 크기가 클수록 남조류의 응집 효과가 크다는 기존의 연구결과를 재확인하고자 양전하 크기가 다른 K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Al³⁺, La³⁺ 및 Ho³⁺ 이온을 대상으로 그 농도를 변화시키면서 남조류의 응집효율을 흡광도 측정법으로 결정하였다. 이때 사용한 남조류로는 녹조 현상을 일으키는 조류 중에서 시아노박테리아를 대상으로 하였다. 아울러, 금속이온의 첨가에 의한 시아노박테리아의 전하중화 내지 응집 효과를 조사하기 위하여 금속이온 및 시아노박테리아의 농도를 변화시키면서 제타포텐셜의 변화를 측정하였다. 그 중에서도, 응결효율이 높을 것으로 예상되는 +3가의 금속이온에 대하여는 응결효율, 응결 시 금속제거율 그리고 제타포텐셜 등의 측정 결과를 토대로 금속이온과 시아노박테리아 표면과의 화학결합이 응집 내지 응결에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 이때 사용한 +3가 금속이온 중 Al³⁺ 이온은 수용액 중에서 쉽게 가수분해하여 양전하 저중합체 화학종(Al₆(OH)₁₅³⁺, Al₇(OH)₁₇⁴⁺, Al₈(OH)₂₀⁴⁺) 또는 콜로이드 입자를 잘 생성하여 응집 내지는 응결 효과가 클 것으로 예상되므로 이를 제타포텐셜 변화 측정으로 확인하고자 하였다. 특히, 녹조현상 제거기술의 개발 측면에서 볼 때 남조류가 단량체 양이온과 상호작용해서 전하만 중화되는 것보다는 양전하의 중합체 화학종(예: 알루미늄 가수분해 화학종)과 상호작용해서 비중이 큰

응결체를 형성하면 침강 효과가 증가할 것으로 예상하고 이것을 실험적으로 확인하고자 했다. 반면에, 양전하 크기는 동일하지만 이온반경이 서로 다르고 가수분해가 잘 일어나지 않는 La³⁺ 및 Ho³⁺ 금속이온들을 응집제로 사용하여 시아노박테리아의 제타포텐셜과 응집효과에 미치는 영향을 조사함으로써 전하중화 이외의 화학적 작용, 즉 금속이온의 크기 및 시아노박테리아 표면 작용기와 금속이온간의 결합세기 등이 응집에 미치는 영향을 밝히고자 했다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

2.1.1. 시아노박테리아 배양

본 실험에 사용한 남조류는 시아노박테리아로서 *Synechocystis* sp. PCC6803 균주를 사용하였다. 시아노박테리아를 배양하기 위하여 BG-11 액체 배지와 1.5% agar가 포함된 배지를 사용하였다.¹⁵⁾ 배양 조건은 백색형광등(50-100 uE/m²)에서 28°C, 140 rpm의 조건으로 4-5일 동안 BG-11 액체배지에서 배양하였으며, 세포의 성장은 UV/Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1601)를 이용해서 730 nm에서의 흡광도(Optical Density, 이하 A₇₃₀로 표기)를 측정하여 정지기에 해당하는 시아노박테리아(A₇₃₀ ≈ 4)를 사용하였다. 배양액의 농도는 Beer-Lambert 한계를 고려하여 배양액의 흡광도가 1 이하가 되도록 희석시킨 뒤 사용하였다.

2.1.2. 금속이온 모용액

본 실험에서 사용한 모든 금속이온의 모용액 농도는 10 mM이었다. LaCl₃ 및 HoCl₃ 용액은 La₂O₃ (Aldrich) 및 Ho₂O₃ (Aldrich)를 최소의 HCl 용액에 용해시킨 후 NaOH를 소량씩 가하여 pH 6.0으로 조절하여 사용하였다. AlCl₃·6H₂O, CaCl₂·2H₂O, MgCl₂·6H₂O, FeSO₄ 그리고 HK₂PO₄는 모두 Aldrich사로부터 구입하여 사용 직전에 증류수에 용해하여 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 흡광도 측정에 의한 응결(flocculation) 효율 결정 및 금속제거율 측정

흡광도 측정에 의한 응결 효과 조사를 위한 모든 실험은 상온(25°C)에서 실시하였다. 5 mL 용량의 polyethylene tube 내에 정지기까지 배양시킨 시아노박테리아(A₇₃₀ ≈ 4)를 0.4 mL 넣고 여러 종류의 금속이온(Al³⁺, Ho³⁺, La³⁺, Ca²⁺, Fe²⁺)을 일정양 만큼 넣은 후 증류수를 가하여 총 부피가 3 mL 되게 하였다. Compact tube shaker (FinePCR SH 2000)를 사용하여 용액을 180 rpm에서 30초 동안 교반한 후에 정지 상태에서 30분 동안 방치하여 시아노박테리아를 자연 침강시켰다. 상등액에 남은 시아노박테리아의 흡광도를 측정해서 응결 효율을 결정하였다.^{8,9)}

별도의 실험으로, +3가 금속이온(Al³⁺, Ho³⁺ 및 La³⁺)을 사

용하여 시아노박테리아를 응결시킨 후 용액 중에 남아있는 금속이온의 농도를 측정하여 응결에 따른 각 금속이온의 제거율을 구하였다. 이 때 사용한 실험 조건은 (1) 일정한 시아노박테리아 농도($A_{730} = 0.25$)에서 금속이온의 농도가 0.2, 0.3 그리고 0.4 mM (2) 일정한 금속이온 농도($[M^{3+}] = 0.4$ mM)에서 시아노박테리아의 농도(A_{730})가 0.25, 0.33 그리고 0.42였다. 상기 각 실험 조건에 맞게 20 mL 용량의 유리 바이얼에 증류수와 금속이온을 가한 후 자석젓개로 교반하면서 시아노박테리아를 가하고 30분간 교반한 후에 하루 동안 방치하였다. 그 다음에, 상등액으로부터 4 mL을 취하여 원심분리 시험관에 넣고 18,000 rpm에서 30분간 원심분리(Centrifuge T-42K)한 후에 상등액내에 존재하는 금속 농도를 ICP-AES (Jobin Yvon Activa)를 이용하여 측정하였다.

2.2.2. 제타포텐셜 측정에 의한 응집 영향 조사

본 실험에서는 세 가지의 실험조건에서 시아노박테리아의 제타포텐셜 변화를 조사하였다: (1) 순수 시아노박테리아에 미치는 pH 영향, (2) 일정한 시아노박테리아 농도에서 금속이온의 농도 변화가 미치는 영향, (3) 일정한 금속이온 농도에서 시아노박테리아의 농도 변화가 미치는 영향. 시아노박테리아의 농도는 제타포텐셜을 측정했을 때 계측율이 50 kcps 이상이 되는 값($A_{730} = 0.25$)으로 선택했다. 순수 시아노박테리아 용액의 pH는 HCl 또는 NaOH를 사용하여 3 내지 10 범위에서 변화시켰다. 일정한 시아노박테리아 농도($A_{730} = 0.25$)에서 변화시킨 금속이온의 농도는 제타포텐셜 변화가 관찰될 수 있는 농도 범위에서 선정했다. 또, 시아노박테리아의 농도를 변화시킬 때의 금속이온의 농도는, 앞에서 수행한 금속이온 농도 변화의 영향 측정결과에서 제타포텐셜 값이 순수 시아노박테리아 값의 반 정도(~ -20 mV)에 해당하는 값으로 선정하였다. 선정된 각 금속이온의 농도는 $[Al^{3+}] = [Ho^{3+}] = [La^{3+}] = 0.40$ mM, $[Ca^{2+}] = [Mg^{2+}] = 3.33$ mM 그리고 $[K^+] = 16.7$ mM이었다. 시아노박테리아의 농도는 A_{730} 의 값으로 0에서부터 0.4까지 변화시켰다. 알루미늄을 제외한 금속이온과 시아노박테리아간의 제타포텐셜 변화 측정 실험에서 사용된 용액의 pH 범위는 6 내지 8이었으며, 알루미늄 이온의 경우에는 pH 범위가 4 내지 7이었다.

앞서 기술한 세 가지 실험은 동일한 방법으로 수행되었다. 20 mL 유리 바이얼 또는 10 mL 유리 시험관에 각 실험 조건에 맞게 증류수와 금속이온 용액을 가하고 자석젓개로 교반하는 상태에서 시아노박테리아 용액을 가하고 30분 이상 교반한 후에 제타포텐셜과 pH를 측정하기 전까지 시료들을 알루미늄 포일로 싸서 10°C의 냉장고에 1일 이상 보관했다. 측정 시 상온(25°C)과 같은 온도가 되도록 하였다.

2.2.3. 응결 효율 및 금속 제거율 결정 방법

금속이온에 의한 시아노박테리아의 응결 정도를 조사하기 위하여 반응 후 30분간 침강시킨 후 상등액의 1 mL를

채취하여 UV/Vis spectrophotometer를 이용해서 730 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Beer-Lambert 법칙에 의거하여 농도간의 선형적인 관계식에 의하여 농도로 환산한 후 응결정도를 응결효율로 정의해서 다음과 같은 식에 의하여 계산하였다.^{8,9)}

$$\text{Flocculation efficiency (\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

- A: 응결 후 상층의 시아노박테리아 농도
- B: 응결 전 상층의 시아노박테리아 농도

금속 제거율(% $M_{rem.}$)은 다음과 같은 식에 의하여 계산하였다.

$$\% M_{rem.} = (1 - [M_{aq}]/[M_0]) \times 100$$

- $[M_0]$: 응결 전 가해준 금속이온의 초기농도
- $[M_{aq}]$: 응결 후 수용액 중 금속이온의 농도

2.2.4. 제타포텐셜 측정 방법

제타포텐셜을 측정하기 직전에 용액을 교반해서 침강물과 상등액을 함께 측정셀에 가하고 측정했을 때와 교반된 용액을 잠시 방치하고 맑은 상등액만을 측정셀에 가하고 측정했을 때의 값을 비교한 결과, 두 값이 오차범위 내에서 서로 일치했다. 따라서 본 측정에서는 측정용액을 교반하고 10분이 경과한 후에 상등액만을 1 mL 취해 folded capillary cell (Malvern)에 담아서 Zetasizer Nano Particle Analyzer (ZEN 3690, Malvern)를 이용하여 제타포텐셜을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 흡광도 측정에 의한 금속이온 종류별 농도에 따른 응결 영향

시아노박테리아 용액에 첨가하는 금속이온의 농도를 변화시켰을 때 흡광도 측정으로부터 시아노박테리아의 응결 효율을 조사하였다. 응집이 비교적 잘 되는 +3가의 이온으로서, Al^{3+} 이온의 농도는 0 - 0.66 mM, La^{3+} 이온은 0 - 1.32 mM, Ho^{3+} 이온은 0 - 3.96 mM의 범위에서 응결 영향을 조사하였다. 반면에 응집이 잘 일어나지 않는 Fe^{2+} 이온은 0 - 66 mM, Ca^{2+} 이온은 0 - 6.6 mM의 농도 범위에서 응집 영향을 조사하였다. 얻어진 결과는 Fig. 1(a)에 종합적으로 제시하였으며, +3가 금속이온에 대한 실험 결과는 보기가 편하게 농도 축을 확대하여 Fig. 1(b)에 나타내었다. Fig. 1(a)에서 볼 수 있듯이, +3가 금속(Al^{3+} , La^{3+} , Ho^{3+})이 +2가 금속(Ca^{2+} , Mg^{2+})보다 응결 효율이 훨씬 크다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 시아노박테리아의 응결반응이 전하중화 과정(응집)을 수반한다는 기존의 연구 결과와 일치한다.^{1,16)} 즉, 금속이온의 양전하량이 클수록 음전하를 띤

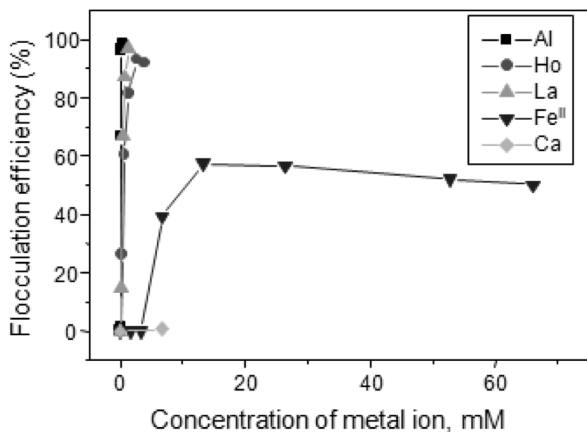


Fig. 1(a). Flocculation efficiency vs. metal ion concentration: $A_{730}=0.5$.

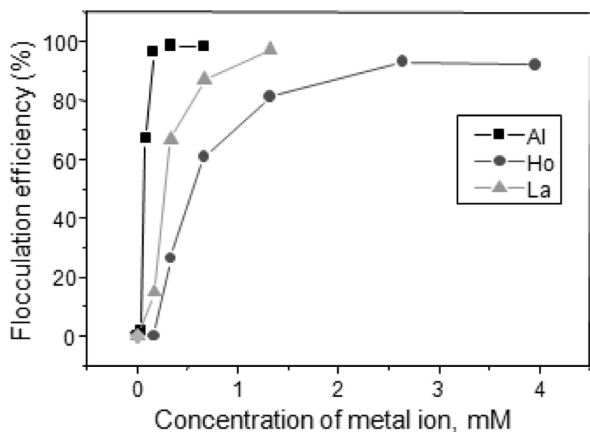


Fig. 1(b). Flocculation efficiency vs. metal ion concentration: $A_{730}=0.5$.

시아노박테리아의 표면전하를 전기적으로 중화시키는 응집효과가 크고 따라서 응결효과가 큰 것으로 보인다. 동일한 농도(0.33 mM)의 +3가 금속이온의 응결 효율을 비교해보면(Fig. 1(b)), 알루미늄, 란타넘, 홀뮴이 각각 98.5, 66.9 및 26.3%의 응결 효율을 보였다. 금속이온 농도를 0.66 mM까지 증가시키면 알루미늄은 높은 응결 효율을 유지했고 란타넘과 홀뮴은 각각 87.0과 60.7%까지 증가함으로써 란타넘이 홀뮴보다 더 빠른 증가를 보였다. 란타넘은 1.32 mM에서 97.1%에 도달하였으나 홀뮴은 2.64 mM에서 93.2%에 도달하였다. 즉, +3가 금속이온의 농도에 따른 응결 효율의 증가율은 알루미늄에서 가장 높았으며, 란타넘, 홀뮴 순으로 감소하였다. +2가 금속이온은 농도가 3.3 mM 이상까지 증가해야 응결효과를 보이기 시작했다. 철(II)의 경우 13.2 mM에서 57.4%까지 응결 효율이 증가했지만 농도가 그 이상으로 증가하면 응결효율이 오히려 감소하는 현상을 보였으며 66 mM에서는 50.1%의 응결 효율을 나타냈다. 반면에 칼슘은 6.6 mM에서도 0.6%의 아주 낮은 응결 효율을 보였다.

일반적으로, 조류 세포 표면의 전하가 금속이온에 의해 중화되어 세포 사이의 응집(coagulation)이 일어난 후에 연

이어서 응집된 입자들이 커다란 덩어리로 뭉쳐지는 응결과정(flocculation)을 거쳐야만 최종적으로 빠른 침강현상이 나타나게 된다. +3가 금속이온에 의한 시아노박테리아의 응결 효율을 나타낸 Fig. 1(b)는 세 가지 금속이온의 전하량이 같더라도 응결 효율이 $Al > La > Ho$ 의 경향성으로 차이가 있음을 보여주고 있다. 이러한 응결에 영향을 미치는 주요 인자로는 매질의 pH와 함께 금속이온의 전하량, 금속이온의 크기(size), 금속이온의 가수분해 세기와 가수분해 화학종 종류, 그리고 이들 이온과 시아노박테리아 표면 작용기와의 결합 세기, 금속이온이 결합된 시아노박테리아 분자간의 반데르발스 인력 등을 고려해 볼 수 있겠다. 시아노박테리아는 일정 pH 이상에서는 세포 표면 작용기의 탈양성자화 작용에 의해 음전하를 갖게 됨으로써 세포간의 반발력이 생성되고 고루 퍼져 있게 되어 낮은 응집과 응결이 나타날 것이다. 만약 용액 중에 금속이온이 존재하여 시아노박테리아의 표면작용기와 결합하면 전하중화가 유발되고, 전기적으로 중성인 시아노박테리아 세포사이에 반데르발스 인력이 작용하여 응결현상이 나타날 것이다. 표면작용기와의 상호작용은 전하량이 클수록, 그리고 이온 크기가 작을수록 강하게 나타날 것이다. 이러한 응결 인자에 대한 좀 더 구체적인 논의는 뒷부분의 제타포텐셜 실험 결과에서 기술될 것이다. 한편, 본 응결 실험은 pH 5 내지 7 범위에서 수행되었다. 알루미늄은 가수분해 경향이 강하기 때문에 이 pH 범위에서 Al^{3+} 이온뿐만 아니라 가수분해물이 생성된다. 가수분해는 이온의 전하량을 감소시키지만 가수분해의 결과로 여러 개의 이온이 중합체를 형성하기 때문에 큰 분자량의 입자가 생성될 수 있다. 큰 분자량의 가수분해 중합체가 시아노박테리아와 상호 작용하면 무거운 입자가 생성되므로 충분한 전하중화가 이루어지지 못한 상황에서도 침강효과를 나타낼 수 있다. 이러한 이유로 알루미늄의 응결 효율이 가장 높게 나온 것으로 사료된다. 반데르발스 인력은 분자량 또는 분자의 크기가 클수록 증가한다. 란타넘과 홀뮴은 실험 농도와 pH 범위에서는 가수분해 되지 않고 모두 La^{3+} 및 Ho^{3+} 이온으로 존재하며, 란타넘이 홀뮴보다는 이온반경이 크므로 란타넘이 결합된 시아노박테리아의 반데르발스 인력이 크다고 볼 수 있고 그 결과로 응결 효율 또한 높게 나온 것으로 보인다.

3.2. 금속 제거율 측정에 의한 금속이온 종류별 농도에 따른 응결 영향

흡광도 측정법으로 얻은 알루미늄, 란타넘 및 홀뮴을 첨가했을 때의 시아노박테리아의 응결 효율(Fig. 1(b))에 대한 보다 나은 이해를 구하기 위하여 응결과정에서 시아노박테리아에 의한 금속 제거율을 별도의 실험을 통하여 조사하였다. 우선, 일정한 시아노박테리아 농도($A_{730} = 0.25$)에서 금속이온의 농도가 0.2, 0.3 그리고 0.4 mM인 실험 조건에서 구한 금속 제거율 측정 결과를 Fig. 2(a)에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 금속 제거율은 금속이온 농도가 증가할수록 선형적으로 감소하였으며 알루미늄의 경우에는

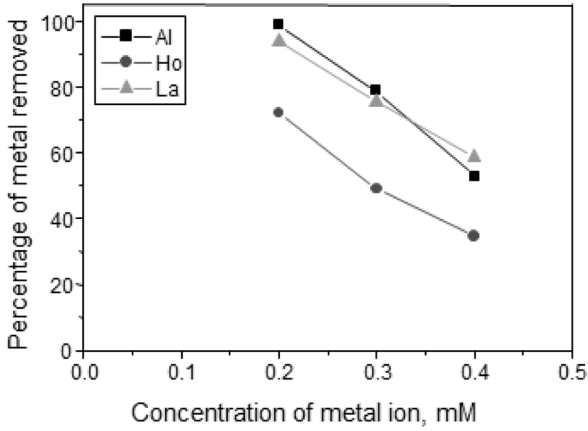


Fig. 2(a). Percentage of metal removed vs. metal ion concentration: $A_{730}=0.25$; $[M]=0.2, 0.3$ and 0.4 mM.

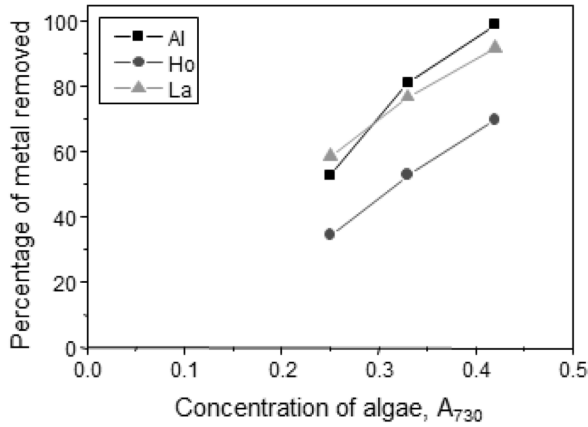


Fig. 2(b). Percentage of metal removed vs. algae concentration: $[M]=0.4$ mM; $A_{730}=0.25, 0.33$ and 0.42 .

금속 제거율의 감소 기울기의 절대값이 다른 두 금속에 비해서 조금 더 컸다. 또한 Fig. 1(b)에서 나타난 것과 같이 시아노박테리아 농도가 $A_{730} = 0.5$ 일 때 알루미늄 농도가 0.2 mM에서 거의 응결 포화가 일어난 것을 감안하면 $A_{730} = 0.25$ 일 때는 알루미늄의 농도가 0.2 mM보다 낮을 때 응결 포화가 일어나는 것을 의미한다. 따라서 알루미늄 농도가 0.2 mM 이상으로 증가했을 때 나타난 알루미늄의 제거는 시아노박테리아와의 결합에 의한 제거와 함께 알루미늄의 가수분해에 의한 침전물 형성 때문으로 보인다. 더욱이 알루미늄의 가수분해 중합체와 시아노박테리아간의 상호작용에 의해 시아노박테리아 세포표면의 전하중화량보다 더 많은 양의 알루미늄이 제거될 수 있다. 또, +3가 금속이온들의 농도가 같을 때, 0.4 mM일 경우를 제외하고, 금속 제거율이 전반적으로 $Al > La > Ho$ 순으로서 흡광도 측정에 의한 응결 효율의 경향과 비슷하였다(Fig. 1(b)). 즉, 시아노박테리아의 응결 효율이 높을수록 수용액으로부터 더 많은 금속이온이 제거되었다. 이것은 금속이온이 시아노박테리아와 결합하거나 정전기적 상호 작용을 하여 동반 침강이 일어났음을 의미한다.

다음으로 일정한 금속이온 농도($[M^{3+}] = 0.4$ mM)에서 시아노박테리아의 농도(A_{730})가 0.25, 0.33 그리고 0.42의 실험 조건에서 금속 제거율을 구하여 그 결과를 Fig. 2(b)에 나타내었다. 시아노박테리아의 농도가 증가할수록 금속 제거율이 선형으로 증가하였다. 이러한 측정 결과는 +3가 이온이 시아노박테리아와의 상호작용에 의해 제거되었음을 나타낸다. La^{3+} 이온의 제거율이 Ho^{3+} 이온보다도 높았다. 이것은 Ho^{3+} 이온의 응결 효율이 낮다는 것을 의미하며 흡광도 측정에서 구한 응결효율 결과와 상응하였다.

3.3. pH 변화에 따른 시아노박테리아의 제타포텐셜 변화

3.3.1. 시아노박테리아 농도 결정

제타포텐셜 측정을 위한 시아노박테리아 농도를 결정하기 위하여 시아노박테리아 농도를 증가시키면서 기기의 계측율을 측정했다. 시아노박테리아의 농도가 흡광도로 $A_{730} = 0.25$ 이상이면 계측율이 50 kcps 이상을 유지하고 피크면적도 큰 변화를 보이지 않았으므로 제타포텐셜 측정의 오차가 적을 것으로 간주했다. 따라서, 제타포텐셜 측정 실험에서는 시아노박테리아의 농도를 $A_{730} = 0.25$ 이상으로 사용하였다.

3.3.2. 시아노박테리아의 농도변화에 따른 제타포텐셜 변화

시아노박테리아의 농도를 변화시키면서 측정한 제타포텐셜을 Fig. 3에 나타냈다. 시아노박테리아 측정 용액의 pH는 8.4 ± 0.4 였으며 주어진 시아노박테리아의 농도 범위에서 측정된 제타포텐셜 값은 -44 내지 -38 mV 범위에서 나타났다. 음의 값을 나타낸 것은 시아노박테리아가 표면에 음전하를 가지고 있음을 나타낸다.⁷⁾ 시아노박테리아의 농도가 증가하면 제타포텐셜의 값이 약간 증가하는 경향을 보였다. 이것은 시아노박테리아의 농도가 증가하면 세포간에 작용하는 반데르발스 인력 때문에 어느 정도의 회합(aggregation)이 일어나서 평균적으로 음전하량이 줄어든 것으로 보인다.

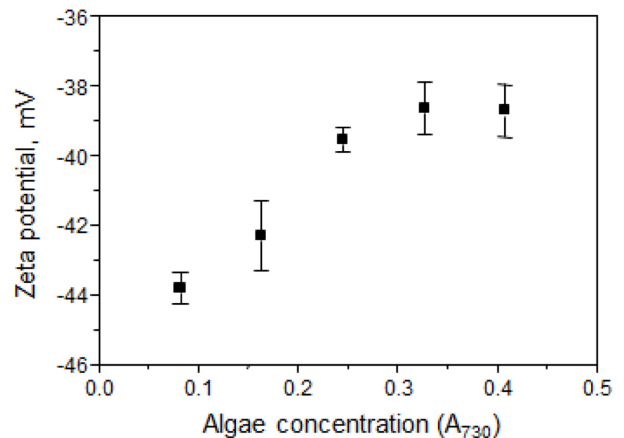


Fig. 3. Zeta potential vs. algae concentration.

3.3.3. 시아노박테리아의 pH 변화에 따른 제타포텐셜 변화

시아노박테리아의 농도를 일정하게 유지($A_{730} = 0.25$)하면서 HCl 또는 NaOH를 첨가하여 시아노박테리아 용액의 pH를 조절하였다. pH가 서로 다른 용액에서 측정된 시아노박테리아의 제타포텐셜 측정 결과를 Fig. 4에 나타내었다. pH가 5.5보다 낮을 경우, pH가 증가할수록 제타포텐셜 값이 급격히 감소하였다. 이것은 시아노박테리아 표면에 존재하는 작용기(functional group)가 pH 증가에 따라 탈양성자 반응(deprotonation)을 하면서 시아노박테리아의 세포 표면에 음전하가 증가했기 때문이다. 반면에, pH가 5.5보다 높으면 제타포텐셜 값이 더 이상 증가하지 않고 일정한 값(-46 ± 1 mV)을 보였다. 시아노박테리아세포 표면의 작용기가 모두 탈양성자 되었기(deprotonated) 때문으로 보인다.

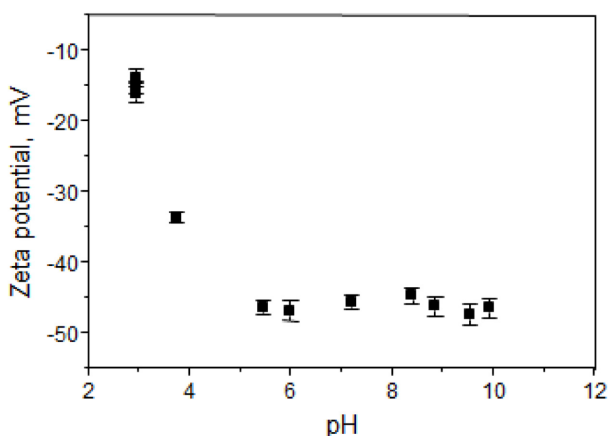


Fig. 4. Zeta potential vs. pH : $A_{730}=0.25$.

일반적으로 세포벽에 존재할 수 있는 작용기로는 -COOH, -POH, -OH, -NH₂ 등을 생각할 수 있다. 본 실험의 결과로 볼 때, 시아노박테리아 세포표면에 존재하는 작용기는 카르복실산(-COOH)이 주종을 이루고 있다고 여겨진다. 그 근거로서, 아세트산의 산해리 평형상수값(pK_a)이 4.8 내지 5 정도이며, 대부분 카르복실산의 pK_a 값이 이 범위에 속한다.¹⁷⁾ 따라서 본 연구에서 수행된 pH 범위 내에서는 시아노박테리아의 세포표면이 작용기가 대부분 해리된 상태에서 음전하를 띠고 있다고 간주하였다. 또한 $pH \geq 5.5$ 에서 일정한 제타포텐셜 값이 측정된 것은 시아노박테리아 농도 증가에 따른 제타포텐셜 값의 증가(Fig. 3, $pH = 8.4 \pm 0.4$)가 pH 변화에 의한 것이 아님을 나타낸다.

3.3.4. 금속이온 농도 변화에 따른 제타포텐셜 변화

시아노박테리아 농도를 일정하게 유지($A_{730} = 0.25$)하면서 첨가하는 금속이온 농도를 변화시키면서 시아노박테리아 용액의 제타포텐셜 변화를 측정된 결과, 금속이온의 농도가 증가할수록 시아노박테리아의 제타포텐셜 값이 증가하였으며, 그 증가 효과는 $Al^{3+} > Ho^{3+} > La^{3+} \gg Ca^{2+} \geq Mg^{2+} \gg K^+$ 순으로 나타났다. 시아노박테리아의 응결이 잘 일어나지 않는 칼륨, 칼슘, 마그네슘 계열과 응결이 잘 일어나는 알루미늄,

란타넘 및 홀뮴 계열을 구분하여 실험 결과를 Fig. 5(a)와 (b)에 나타냈다.

Fig. 5(a)에서 볼 수 있듯이, 전하량이 작은 K^+ 이온은 18 mM의 높은 농도까지 증가시켜도 제타포텐셜의 변화가 미미하였다. Mg^{2+} 와 Ca^{2+} 이온의 경우에는 실험한 농도 범위에서 금속이온의 농도 증가에 따른 제타포텐셜 변화 경향이 서로 비슷하였다. 이것은 두 금속이온이 시아노박테리아 표면의 작용기와 결합하는 세기가 서로 비슷하여 전하중화력도 비슷하기 때문으로 보인다. 실험한 pH 범위(6 내지 8)에서는 두 금속이온 모두 가수분해가 일어나지 않으므로 가수분해물이 제타포텐셜 변화에 미친 영향은 없다고 할 수 있다. Fig. 5(b)는 +3가 금속이온 농도의 영향을 나타낸 것으로서 금속이온의 농도가 증가할수록 시아노박테리아 용액의 제타포텐셜 값이 증가하는 것을 보여주고 있다. Al^{3+} 이온의 경우, 0.2 mM 이하에서는 제타포텐셜 값의 증가가 미미하였다. 그러나 앞서 기술한 시아노박테리아의 응결효율 측정 결과(Fig. 1(b))를 보면, 0.2 mM 이하의 알루미늄 농도 범위에서의 응결효율은 95% 이상이었다. 즉, 시아노박테리아 세포 표면의 전하가 완전히 중화되지 않아도 응결은 빠르게 일어날 수 있다는 것을 의미한다. 알루미늄 이온은

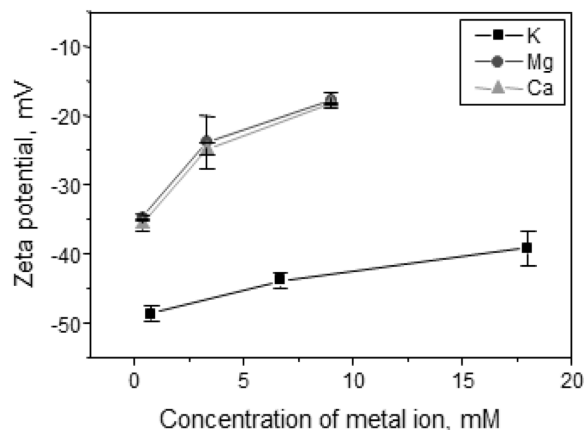


Fig. 5(a). Zeta potential vs. metal ion concentration : $A_{730}=0.25$, Metal; K, Mg and Ca.

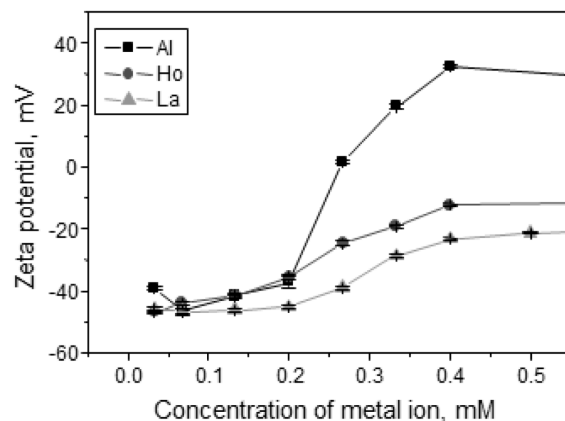


Fig. 5(b). Zeta potential vs. metal ion concentration : $A_{730}=0.25$, Metal; Al, Ho and La.

pH에 따라 다양한 이온 화학종으로 존재할 수 있다. 알루미늄 이온의 농도가 0.2 mM인 경우에 용액의 pH가 4까지 증가하기 전에 가수분해 화학종이 생성되기 시작하며, pH가 5 정도가 되면 가수분해 중합체를 생성하고, pH가 5보다 더 높게 증가하면 수산화물 침전을 생성하며, pH가 8 이상으로 증가하면 음전하 수산화물을 생성한다. 따라서 알루미늄 이온의 가수분해로 생성된 중합체나 고체 입자가 응결 씨앗(seed) 역할을 해서 응결 효율이 높았던 것으로 보인다. 시험관의 응결 현상을 육안으로 관찰했을 때, 시아노박테리아 용액에 알루미늄 이온을 가하면 분산된 가수분해물이 생성되고 이들이 시아노박테리아와 함께 침강하는 것을 육안으로 관찰 할 수 있었다. 알루미늄 이온의 존재에 따라 하룻밤 동안 정지상태로 방치한 후의 침강물이 서로 크게 다른 모습을 보였다. 금속이온을 가하지 않은 시아노박테리아는 시험관 바닥에 치밀하게 응결된 모양이지만 알루미늄 이온이 존재하는 상태에서 침강된 시아노박테리아는 치밀하지 못하고 약간 푸석한 형태를 보였고 용액의 유동에 따라 흔들리는 모습을 보였다. 용액을 다시 교반하면 알루미늄 이온이 존재하지 않는 용액의 시아노박테리아는 고르게 분산되지만 알루미늄 이온이 존재하는 경우에는 시아노박테리아가 다시 빠르게 침강되는 것을 보였다. 이것은 시아노박테리아가 알루미늄 이온의 가수분해물과 상호작용하고 있음을 나타낸다. 가수분해 침전물이 생성되더라도 알루미늄 이온의 농도가 0.3 mM 이상인 조건에서는 제타포텐셜 값이 양의 값을 보였다. 이것은 시아노박테리아 용액 중에 양전하의 알루미늄 가수분해물이 콜로이드 형태로 존재하고 있음을 나타낸다.

La³⁺와 Ho³⁺의 경우, 농도를 0.4 mM까지 증가시키면 제타포텐셜의 값이 점차 증가했으며, 그림에 표시는 하지 않았지만 3.3 mM에 도달했을 때 제타포텐셜의 값이 0까지 증가되었다. 동일한 금속이온의 농도에서 제타포텐셜의 값은 Ho³⁺이 La³⁺보다 더 높았다. 즉, 같은 양전하량을 가지더라도 시아노박테리아의 음전하량을 중화시키는 능력이 Ho³⁺이 더 크다는 것을 의미한다. 이러한 이유를 시아노박테리아 표면 작용기(아세트산이라 가정함)와 금속이온간의 결합으로 해석이 가능해 보이며, 다음의 반응식으로 나타낼 수 있다.



문헌에 따르면,¹⁷⁾ 상기 반응식에 대한 금속이온의 안정도 상수(stability constant)의 값을 logK의 값으로 비교하면 Ho³⁺(1.67) > La³⁺(1.59) > Al³⁺(1.51)이다. 즉, Ho³⁺인 경우 시아노박테리아와의 결합에 대한 반응성이 La³⁺보다 1.2배 (=10^{1.67-1.59})나 크다. 여기서 흥미로운 것은 Ho³⁺와 La³⁺의 제타포텐셜 측정 결과와 흡광도 측정에 의한 시아노박테리아의 응결 효율 실험 결과가 서로 상반된다는 것이다. 이러

한 실험 결과는 시아노박테리아의 응결 및 침전 과정에 전하중화와 세포간 회합을 수반한다는 것을 보여준다고 할 수 있다. 특히 전하중화는 금속이온과 시아노박테리아간의 결합에 의해 일어나며 전하량이 같더라도 이온의 크기가 작을수록 더 큰 전하중화력, 즉 더 큰 응집효과를 나타낼 수 있다. 반면에 응결 효과는 주로 반데르발스 인력에 의존하므로 금속이온이 결합된 시아노박테리아의 크기가 클수록 더 큰 효과를 가질 것으로 예상된다. 다시 말해 Ho³⁺이온(0.89 Å)은 La³⁺이온(1.06 Å)보다 크기가 작기 때문에 표면 작용기와의 상호작용이 강해서 전하중화가 효율적이고 결과적으로 더 큰 응집(coagulation) 효과를 나타낼 수 있지만 응결(flocculation) 효과는 명확히 단정할 수 없다. 다만, 앞서 기술한 응결 효율 및 금속 제거율 측정에서 La³⁺이온이 Ho³⁺이온보다 응결 효율과 금속 제거율이 높았다는 결과로부터, 크기가 큰 La³⁺이온과 결합된 시아노박테리아 분자가 Ho³⁺이온과 결합한 시아노박테리아보다 더 회합하기가 유리할 수 있다고 조심스럽게 가정해 볼 수 있다.

녹조 제거에 가장 효율적인 응집제라고 알려진 알루미늄은 가수분해가 잘 일어나기 때문에 제타포텐셜 측정만으로는 시아노박테리아의 응결 효과를 명확히 규명하기가 어렵다. 가수분해 상수값(logK)¹⁸⁾은 Al³⁺(9.01) >> Ho³⁺(5.69) > La³⁺(5.50)로서 알루미늄 이온이 훨씬 가수분해가 잘 일어난다는 것을 알 수 있다. Al³⁺이온을 La³⁺나 Ho³⁺이온과 비교하면, 아세트산 착물형성 상수값에서 Al³⁺이온이 가장 작다. 따라서 착물 형성에 의한 시아노박테리아 표면에서의 전하중화 세기도 작아서 제타포텐셜의 증가도 상대적으로 작게 나타날 것이다. 그러나 알루미늄 응집제에 의한 응결 효과가 큰 것을 감안해 볼 때 Al³⁺이온의 가수분해 상수가 상대적으로 매우 크므로 가수분해물에 의한 효과가 클 것으로 예상된다. 향후 이에 대한 보다 심층적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

3.3.5. 시아노박테리아 농도의 제타포텐셜에 미치는 영향

일정한 금속이온 농도에서 시아노박테리아의 농도(A₇₃₀)를 0.08에서 0.42까지 증가시키면서 제타포텐셜 변화를 측정하였다. 전하량이 +1 또는 +2인 금속이온에 대한 실험 결과는 Fig. 6(a)에, +3인 금속이온의 결과는 Fig. 6(b)에 나타났다. 주어진 금속이온의 농도는 시아노박테리아의 농도(A₇₃₀)가 0.25일 때 제타포텐셜의 값이 -20 mV을 나타낼 때의 금속이온의 농도로 선정하였다. 비교를 위하여 Fig. 3에 나타난 순수한 시아노박테리아의 농도 변화에 대한 제타포텐셜 측정 결과를 Fig. 6(a)에 함께 나타냈다. Fig. 6(a)에 볼 수 있듯이, K⁺, Mg²⁺ 및 Ca²⁺의 경우 시아노박테리아의 농도(A₇₃₀)가 증가하더라도 제타포텐셜의 변화가 크지 않았다. 순수한 시아노박테리아는 농도가 증가하면 제타포텐셜이 증가했다. 전체적으로는 제타포텐셜의 크기가 Mg²⁺ > Ca²⁺ > K⁺의 경향을 보이고 있다. 이 경향은 일정한 시아노박테리아 농도에서 금속이온이 증가할 때의 제타포텐셜 변화

(Fig. 5(a))에서 Mg^{2+} 이온이 Ca^{2+} 이온보다 그 영향이 약간 더 크다는 것과 일치한다. Fig. 6(b)에서 볼 수 있듯이, Ho^{3+} 및 La^{3+} 이온의 경우, 일정한 시아노박테리아의 농도(A_{730})에서 제타포텐셜이 Ho^{3+} 이온일 때가 La^{3+} 이온일 때보다 컸다. 또, 시아노박테리아의 농도가 증가하면 제타포텐셜이 감소하는 경향을 보이는데 Ho^{3+} 이온일 때가 La^{3+} 이온일 때보다 감소 정도가 작음을 보여주고 있다. 이것은 Ho^{3+} 이온이 La^{3+} 이온보다 전하중화력이 크다는 것을 보여준다. 이러한 결과는 앞의 실험 결과(Fig. 5(b))와 상응함을 보여준다. Al^{3+} 이온의 경우, 다른 두 가지 +3가 이온과는 확연히 다른 경향을 보였다. 시아노박테리아의 농도(A_{730})가 0.25 이하일 때 제타포텐셜의 값이 모두 양의 값을 나타냈다. 이것은 Fig. 5(b)에서 보았듯이 시아노박테리아의 농도(A_{730})가 0.25 일 때 알루미늄의 농도가 0.3 mM이면 제타포텐셜 값이 양의 값을 나타냈으므로 0.4 mM의 높은 농도에서는 당연히 양의 값을 나타낸다고 할 수 있다. 즉, 양전하의 알루미늄 가수분해물의 생성에 의해 제타포텐셜이 양의 값을 나타낸다고 할 수 있다. 시아노박테리아 농도가 0.25보다 높아지면 전하중화를 위해 알루미늄 이온이 소모될 것이므로 제타포텐셜 값은 감소하게 되고 $A_{730} = 0.4$ 에 이르면 제타포텐셜 값이 0으로 나타났다.

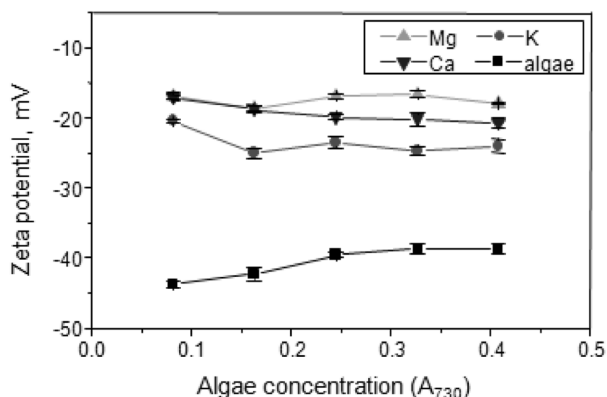


Fig. 6(a). Zeta potential vs. algae concentration : [K], [Mg] and [Ca]=16.7, 3.33 and 3.33 mM, respectively.

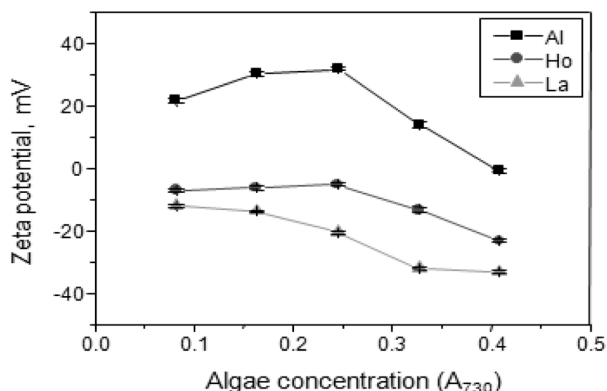


Fig. 6(b). Zeta potential vs. algae concentration : [Al], [Ho] and [La]=0.4 mM.

4. 결론

본 연구에서는 시아노박테리아 배양액을 대상으로 여러 종류의 금속이온을 첨가하여 응집 내지 응결 효과를 흡광도 측정 및 제타포텐셜 측정을 통하여 조사하였다. 본 연구를 통해 얻은 주요 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 시아노박테리아의 흡광도 측정결과, 응결효율(flocculation efficiency)은 $Al^{3+} > La^{3+} > Ho^{3+} > Fe^{2+} > Ca^{2+}$ 였으며, 응결 시 수반되는 금속 제거율은 $Al^{3+} > La^{3+} > Ho^{3+}$ 순으로 응결효율과 동일한 경향을 나타내었다.

2) 금속이온이 없는 순수 시아노박테리아의 제타포텐셜은 음의 값을 나타냈으며, 시아노박테리아의 농도가 증가하면 점차 제타포텐셜 값이 증가하였다. 또, 순수 시아노박테리아 수용액의 제타포텐셜 값은 $pH < 5.5$ 에서는 pH가 증가하면 빠르게 감소하였으며, $5.5 \leq pH \leq 10$ 범위에서는 pH가 증가하더라도 거의 일정한 값(-46 ± 1 mV)을 보였다.

3) 일정한 시아노박테리아 농도($A_{730} = 0.25$) 조건에서 금속이온의 농도에 따른 시아노박테리아의 제타포텐셜 증가 효과는 $Al^{3+} > Ho^{3+} > La^{3+} \gg Mg^{2+} \geq Ca^{2+} \gg K^+$ 로 나타났다. 즉, 금속이온의 전하량이 클수록 시아노박테리아 표면에 대한 전하중화력이 커서 응집 효과가 큰 것으로 나타났다. 동일한 전하량을 갖는 금속이온이더라도 가수분해 중합체를 생성하는 Al^{3+} 이온이 효과가 가장 컸으며, 음전하의 시아노박테리아 표면과 보다 강한 화학결합을 하는 Ho^{3+} 이온이 La^{3+} 이온보다 응집 효과가 컸다.

4) 일정한 금속이온 농도에서 K^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 의 경우 시아노박테리아의 농도(A_{730})가 증가하더라도 제타포텐셜의 변화가 미미하였다. 반면에, +3가 이온 중 Ho^{3+} 와 La^{3+} 이온의 경우, 시아노박테리아의 농도가 증가하면 제타포텐셜 값이 감소하였으며, 감소율 측면에서 Ho^{3+} 이온이 La^{3+} 이온보다 더 작은 것으로 보아 전하중화력 면에서 Ho^{3+} 이온이 La^{3+} 보다 효과가 크다는 것을 알 수 있었다. Al^{3+} 이온은 가수분해 생성물 때문에 제타포텐셜 측정만으로는 응집 내지 응결 효과를 간단히 해석하기가 어려웠다.

본 연구로부터 얻은 결론은 양의 전하량이 큰 금속이온일수록 시아노박테리아의 응집효과가 크고 응결 효과도 컸다. 그러나, 같은 전하량을 가진 금속이온의 응집효과에서는 금속이온과 시아노박테리아 표면과의 결합 세기에 의존함을 보였으며, 응결 효과는 금속이온이 결합된 시아노박테리아 간의 반데르발스 인력에 의존함을 보였다. 알루미늄의 경우에는 예외적으로 가수분해물 생성에 의한 응집 및 응결 효과가 크게 나타났다. 본 연구결과는 녹조 제거나 조류 기반의 바이오 디젤 생산을 위한 화학응집제를 개발하는데 기여할 수 있을 것으로 보인다.

Acknowledgement

본 연구는 2012년도 호서대학교의 재원으로 학술연구비 (2012-0332) 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

KSEE

References

- Grima, E. M., Belarbi, E. H., Fernandez, F. G. A., Medina, A. R. and Chisti, Y., "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics," *Biotechnol. Adv.*, **20**, 491~515(2003).
- Wyatt, N. B., Gloe, L. M., Brady, P. V., Hewson, J. C., Grillet, A. M., Hankins, M. G., Pohl, P. I., "Critical conditions for ferric chloride-induced flocculation of fresh water algae," *Biotechnol. Bioeng.*, **109**(2), 493~501(2012).
- Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y. and Li, A., "Evaluation of flocculation induced pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium," *Bioresour. Technol.*, **110**, 496~502(2012).
- Liu, J., Tao, Y., Wu, J., Zhu, Y., Gao, B., Tang, Y., Li, A., Zhang, C. and Zhang, Y., "Effective flocculation of target microalgae with self-flocculating microalgae induced by pH decrease," *Bioresour. Technol.*, **167**, 367~375(2014).
- Wan, C., Alam, M. A., Zhao, X. Q., Zhang, X. Y., Guo, S. L., Ho, S. H., Chang, J. S. and Bai, F. W., "Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies," *Bioresour. Technol.*, **184**, 251~257(2015).
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M. K., Forde, G. M. and Hoadley, A., "Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels," *Renew. Sustain. Energ.*, **2**: 012701(2010).
- Ives, K. J., "The significance of surface electric charge on algae in water purification," *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, **1**(1), 37~47(1959).
- Kwon, D. Y., Jung, C. K., Park, K. B., Lee, C. G. and Lee, J. W., "Flocculation Characteristics of Microalgae Using Chemical Flocculants," *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.*, **26**, 143~150(2011).
- Kwon, D. Y., Jung, C. K., Lee, C. G. and Lee, J. W., "Flocculation Characteristics of Microalgae Through Combined Flocculants," *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.*, **26**, 443~452(2011).
- Son, S. M., Jutidamrongphan, W. and Park, K. Y., "Addition of Coagulants for Phosphorus Removal from Combined Sewer Overflows (CSOs)," *J. Korean Soc. Water and Waste.*, **26**, 295~302(2012).
- Susana, G. F., Maria. C. I. and Humberto, J. S., "Effect of a cyanobacterial community on calcium carbonate precipitation in Puente del Inca," *Acta Bot. Croat.*, **61**(1), 1~9(2002).
- Rita, K. H., Simon, A. P. and Bruce, J., "The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae," *Water Res.*, **44**, 3617~3624(2010).
- Lee, D. Y., Chung, S. J., Park, S. S. and Jung, B. O., "Flocculation Effect of Chitosan by Z-potential," *J. Chitin. Chitosan*, **19**, 138~142(2014).
- Ko, S. H., Paik, S. Y. R. and Ryu, J. N., "Comparison of Physicochemical Properties of Calcium Carbonate Nano- and Micro-Powders," *Food Eng. Prog.*, **16**, 134~138(2012).
- Rippka R. and Cohen-Baziere G., "The cyanobacteriales: a legitimate order based on the type of strain Cyanobacterium stanieri?," *Ann Microbiol. (Paris)*. **134B**(1), 21~36(1983).
- Golueke, C. G. and Oswald, W. J., "Harvesting and Processing Sewage-Grown Planktonic Algae," *J. Water Pollut. Contr.*, **37**, 471~498(1965).
- Arthur, E. M and Robert, M. S., "Critical Stability Constants; Vol. 3 : Other Organic Ligands," 2nd ed., Plenum Press, New York, pp. 3~59(1989).
- Robert, M. S. and Arthur, E. M., "Critical Stability Constants ; Vol. 4 : Inorganic Complexes," 2nd ed., Plenum Press, New York and London, pp. 1~12(1981).