

미세조류 *Scenedesmus obliquus* 영양염류와 중금속(Cu, Zn) 거동특성 및 축산 폐수 처리 적용성 평가

박지수 · 황인성* · 오은지 · 유진 · 정근욱[†]

충북대학교 환경생명화학과, *충청북도 동물위생연구소 축산물검사와
(2019년 1월 3일 접수, 2019년 1월 30일 심사, 2019년 2월 15일 채택)

Behavior of Nutrients and Heavy Metals (Cu, Zn) and Applicability Evaluation from Swine Wastewater Treatment Using Microalga *Scenedesmus obliquus*

Ji-Su Park, In-Sung Hwang*, Eun-Ji Oh, Jin Yoo, and Keun-Yook Chung[†]

Department of Environmental & Biological Chemistry, College of Agriculture, Life and Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

*Animal Products Inspection Division, Chungbuk Livestock and Veterinary Service, Cheongju 28153, Korea
(Received January 3, 2019; Revised January 30, 2019; Accepted February 15, 2019)

초 록

기존의 축산폐수 처리 공정보다 생물학적 처리 공정은 친환경적이며 다양한 목적으로 폐수에서 효율적으로 이용될 수 있다. 특히, 생물학적 처리 공정 중 미세 조류를 이용한 폐수처리는 경제적으로 영양염류를 제거할 수 있으며, 재생 에너지원으로서 많은 이점을 가지고 있어 주목받고 있다. 본 연구에서는 미세 조류 *Scenedesmus obliquus*의 최적 성장 조건을 확립하고, 인공 폐수와 실제 축산폐수에서 영양염류(N, P)와 중금속(Cu, Zn) 제거 효율을 평가하였다. 연구 결과, 최적 성장 조건은 28 °C, pH 7, light : dark cycle은 14 : 10 h로 확립되었다. 농도(500, 1,000, 5,000, 10,000 mg/L)별 영양염류의 제거율 평가에서 단일 처리구는 N 17.6~70%, P 8.4~34%, 복합 처리구는 N 12~58%, P 3~40.3%의 제거율을 보였다. 또한, 농도(10, 30, 50 mg/L)별 중금속의 제거율 평가에서 단일 처리구는 Cu 13.7~40.3%, Zn 10.0~30.0%, 복합 처리구는 Cu 16.0~40.0%, Zn 12.0~20.0%의 제거율을 보였다. 중금속 복합 처리구(10, 30, 50 mg/L)에서 각 농도 별로 Cu는 16.0~40.0%, Zn은 12.0~20.0%의 제거율을 보였다. 연구 결과를 바탕으로 *Scenedesmus obliquus*의 영양염류와 중금속에서의 거동 특성을 파악하여 실제 축산 폐수 처리에 적합함을 판단하였다.

Abstract

The biological wastewater treatment is more eco-friendly and can be used effectively in wastewater for a variety of purposes than that of the conventional treatment. In particular, the wastewater treatment using microalgae in biological treatment processes has attracted great attention due to its ability to remove economically nutrients from wastewater and have many advantages as a renewable energy source. This study was investigated to establish the optimal growth conditions for microalga *Scenedesmus obliquus*. Additionally, the removal efficiencies of nutrients (N, P) and heavy metals (Cu, Zn) from the synthetic wastewater were evaluated. As a results, the optimal growth conditions were established at 28 °C, pH 7, and light and dark cycle of 14 : 10 h. In the evaluation of nutrient removal efficiencies at each concentrations of 500, 1,000, 5,000, and 10,000 mg/L, the removal rates were 17.6~70% N and 8.4~34% P in the single treatment and 12.0~58.0% N and 3.0~40.3% P in the binary mixture treatment. In addition, the evaluation of heavy metal removal efficiencies at each concentrations of 10, 30 and 50 mg/L, the removal rates were 13.7~40.3% Cu and 10.0~30.0% Zn in the single treatment and 16.0~40.0% Cu and 12.0~20.0% Zn in the binary mixture treatment. Based on the results of the study, it appears that *Scenedesmus obliquus* can be used for the removal of nutrients and heavy metals from the swine wastewater.

Keywords: Microalgae, Phytoremediation, Nutrient, Heavy metal, Swine wastewater

1. 서 론

수질 오염발생에 있어서 오염 물질이 배출되는 형태에 따라 점원과 비점원으로 분류할 수 있다. 점원은 biochemical oxygen demand (BOD) 중심의 유기물질 오염을 포함한다. 반면, 비점원은 질소, 인과 같은 영양염류, bacteria, virus 등의 미생물류, 중금속 등 여러 가지 오염물질

[†] Corresponding Author: Chungbuk National University, Department of Environmental & Biological Chemistry, Cheongju 28644, Republic of Korea
Tel: +82-43-261-3383 e-mail: kychung@cbnu.ac.kr

을 포함한다. 비점원으로 농업계에서는 가축분뇨, 비료, 농약, 농업배수가 있다. 특히, 축산폐수는 발생량에 비해 오염 부하량이 매우 큰 고농도 유기성 폐수로 질소, 인 등의 부영양화물질을 고농도로 함유하고 있다. 대부분 가축의 성장촉진, 질병의 예방 등의 목적으로 가축사료에 첨가되는 주입된 Cu와 Zn 같은 중금속이 분뇨로 배설된다. 중금속은 낮은 농도에서도 수생 동·식물에게 독성을 일으키고, 생물분해성 물질이 아니기 때문에 먹이 사슬에 축적되어 생태계 교란이 일어날 수 있다[1]. 또한, free ammonia는 수생 생물에 독성을 일으키고, ammonium ion과 ammonia는 수중의 용존 산소를 감소시켜 수생식물과 하천의 자정작용 등에 영향을 주고, 과량의 질소와 인은 부영양화를 일으키는 주요 원인으로 알려져 있다[2,3].

축산폐수에 함유된 오염물질을 완전히 제거하기 위해서는 다른 처리과정 보다도 더 많은 비용과 기술이 필요하다. 기존의 물리·화학적 처리 공정은 비용이 많이 들고 대량의 슬러지를 생산하며 2차 오염으로 이어지고, 또 다른 추가적인 비용이 발생한다[4]. 최근 위와 같은 문제점을 해결하기 위해 bacteria, fungi, algae, protozoa 등을 이용하여 폐수를 처리하는 생물학적 처리 공정에 관한 연구가 주목받고 있다. 일반적으로 미세조류는 농업용 배수로나 하천에서 쉽게 발견되고, 무기 질소와 인을 성장에 이용하기 때문에 다양한 생물학적 처리 공정 중에서도 효율적으로 이용될 수 있다[5,6]. 또한, 미세조류는 중금속뿐만 아니라 일부 유독성 유기화합물도 제거할 수 있으며, 2차 오염을 유발하지 않는다. 현재까지 미세조류 중 *Chlamydomonas reinhardtii*[7], *Chlorella pyrenoidosa*[8], *Scenedesmus rubescens* [9] 등은 폐수의 무기 영양분을 제거하는 종으로써 다양한 방법으로 연구되고 있다. 폐수의 오염물질을 제거하기 위해서는 적절한 종의 선택이 중요한데, *Scenedesmus*는 성장을 위해 유일한 질소원으로 nitrite 또는 ammonium을 사용할 수 있는 중온성 단세포의 녹조류이다. 또한, *Scenedesmus*종은 오염된 하천이나 연못에서 우점종으로 보고되어지고 있으며[10], 담수계에서 가장 일반적으로 분포하며 부 영양화된 수질을 정화하는 주요한 역할을 수행할 수 있어 폐수 처리에 효과가 있을 것으로 기대된다[11,12]. 한편, 기존의 미세조류에 관한 연구는 주로 산업 및 도시 폐수에서의 영양염류 제거, CO₂ 고정화 및 바이오 오일 생산에 중점을 두고 있다. 하지만, 축산폐수 내 과도한 영양염류와 중금속 검출로 인하여 수질오염의 발생이 증가함에 따라 불구하고 축산폐수의 처리에 관한 연구는 초기단계로 실제적인 연구가 매우 미흡하며 많은 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 미세조류의 일종인 녹조류 *Scenedesmus*과에 속하는 *Scenedesmus obliquus*를 대상으로 최적 배양조건을 확립하기 위해 온도, pH, 광주기에 따른 생장률을 측정하고, 영양염류(N, P) 및 중금속(Cu, Zn)이 성장에 미치는 영향과 제거율을 확인하고자 하였다. 또한, 연구 결과를 바탕으로 *Scenedesmus obliquus*를 실제 축산농가에서 배출되는 축산폐수에 적용시켜 축산폐수에 대한 *Scenedesmus obliquus* 현장 적용 가능성을 평가하였다.

2. 실험

2.1. 실험 균주

본 연구에 사용된 미세조류는 녹조류 일종인 *Scenedesmus obliquus*로 한국 생명공학연구원 미생물자원센터(KCTC)로부터 분양받았다. *Scenedesmus obliquus*의 전배양은 BG-11 medium을 사용하였다[13]. 전배양된 미세조류를 10% (v/v)로 접종하여 온도는 28 °C, pH 7을 유지 해주며, 광주기(light : dark cycle)는 14 : 10 h를 반복하는 조건으로

14일 간격으로 계대배양을 하였다. 광원 공급은 식물 재배용 주광색 형광램프(FL20SGP)를 사용하고, 광량은 150 mol/m²/sec 고정하였다.

2.2. 최적배양 조건 확립

*Scenedesmus obliquus*의 최적 배양 조건을 확립하기 위해 온도(15, 25, 28, 35 °C), pH (3, 5, 7, 10), 광주기(10 : 14, 12 : 12, 14 : 10 h)의 조건하에 실험하였다. 250 mL cell culture flask에 배지 200 mL를 넣고, 배양한 *Scenedesmus obliquus*를 0.5% (w/v)로 접종하여 14일 배양하였다.

2.3. 영양염류(N, P)에 따른 성장과 제거율

질소와 인의 농도에 따른 *Scenedesmus obliquus*의 성장과 제거율을 확인하기 위해 배지 내 포함된 질소원(NaNO₃)과 인원(K₂HPO₄ · 3H₂O)을 제외한 배지를 제조하였다. 실험을 위해 질소원과 인원으로 NaNO₃, NH₄Cl 및 K₂HPO₄를 이용하여 각각 500, 1,000, 5,000, 10,000 mg/L의 농도로 처리하였다. 처리구의 농도 설정 기준은 축산기술연구소에서 보고된 축종별 축산폐수 내 오염물질의 농도를 참고하여 질소와 인의 평균농도로 설정하였다. 처리구는 질소와 인을 농도별로 처리한 단일 및 혼합 처리구로 구성하였다.

2.4. 중금속(Cu, Zn)에 따른 성장과 제거율

실험에 사용된 중금속 표준용액은 일본의 KANTO CHEMICAL CO₂에서 시판되는 Cu standard solution (1,000 mg/L)과 Zn standard solution (1,000 mg/L)을 사용하였다. 처리구의 농도 설정 기준은 한국환경정책평가연구원에서 보고된 가축분뇨의 중금속함량을 참고하여 10, 30, 50 mg/L의 농도로 설정하였다. 처리구는 Cu와 Zn을 농도별로 처리한 단일 및 혼합 처리구로 구성하였고, 혼합 처리구는 Cu와 Zn의 농도를 1 : 1 비율에 맞춰 진행하였다.

2.5. 미세조류 성장 측정

성장 측정은 수질 오염공정시험기준의 ES04312.1a chlorophyll-a 분석법으로 측정하였다. 시료 10 mL를 유리 섬유여과지(GF/C, 45 mm)로 여과하고, 여과지를 넣은 조직 마쇄기에 아세톤과 증류수(9 + 1)를 넣고 마쇄하였다. 마쇄한 시료는 원심분리관에 넣고 밀봉 후 4 °C의 어두운 곳에서 하루 동안 방치를 한 후 원심분리(500 g, 20 min)하여 상등액을 따로 채취하여 부피 측정하였다. 분리된 상등액은 분광광도계(Model UV Mini 1240 Shimadzu, Japan)를 이용하여 663, 645, 630, 750 nm 파장에서 *Scenedesmus obliquus*의 성장을 측정하였다.

2.6. 축산폐수에서의 현장 적용성 평가

축산폐수는 총 3곳의 농가에서 채취하였다. 축산폐수 A는 충북에 위치한 대규모 가축사육단지로부터 공급받았으며, B와 C는 소규모 축산 농가시설에 배출되는 방류수를 채취하였다. 3가지 축산폐수 모두 축사시설에서 배출되는 수로로부터 10 m 떨어진 위치에서 채취하여, 4 °C 저온실에서 보관하였다. 실험에 사용된 축산폐수는 부유물을 제거하고 침전시킨 후 필터링하여 사용하였고, 구성성분은 Table 1과 같다. 축산폐수에서의 T-N, T-P와 중금속(Cu, Zn)의 제거를 실험은 이전 실험과 동일한 방법으로 수행하였다.

2.7. 수질분석

총 질소(total nitrogen, T-N)와 총 인(total phosphorus, T-P)의 측정은 수질 오염 공정시험기준법에 준하여 분석하였다. 총 질소 분석은 자외선

Table 1. Chemical Properties of Swine Wastewater Samples Used for the Experiment

Sample	pH	T-N	T-P	Cu	Zn
		mg/L			
Swine wastewater A	5.8	6,952	867	15.1	59.7
Swine wastewater B	6.3	5,418	990	34.8	74.7
Swine wastewater C	5.6	6,617	491	25.4	40.8

Table 2. Conditions of ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry) Used in the Experiment

Item	Analysis conditions
RF power	1,300 KW
Nebulizer	Seaspray
Plasma flow	15 L/ min
Auxiliary flow	0.2 L/min
Nebulizer flow	0.65 L/min

흡광광도법을 이용하여 분석을 실시하였으며, 총 인 분석은 아스코르빈산에 의한 몰리브덴 청법을 이용하여 분석하였다. 중금속 분석을 위해 수질 오염 공정시험기준법에 의한 질산-황산을 이용한 전처리 방법을 사용하여 유도결합플라즈마 발광광도계(ICP-OES, Perkin Elmer)를 이용하여 분석하였다. 사용된 중금속의 파장범위는 Cu²⁺ (327.393), Zn²⁺ (206.200)이며, 분석조건은 Table 2와 같다.

2.8. 통계분석

SAS package (statistical analysis system, version 9.1, SAS Institute Inc.)를 이용하여 실험 결과를 통계 분석하였다. 또한, 실험 결과의 유의한 차이를 조사를 위해 ANOVA (analysis of variance) 분석과 Tukey's HSD (honest significant difference) test를 실시하였고, 신뢰구간은 95% 수준으로 설정하였다. 모든 실험은 3반복으로 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 배양조건(온도, pH, 광주기)에 따른 성장

온도조건에 따른 *Scenedesmus obliquus*의 성장을 측정하기 위하여 15, 25, 28, 35 °C 총 4가지로 조건으로 설정하였다. *Scenedesmus obliquus*는 28 °C일 때 가장 높은 성장률을 보였고, 15 °C일 때 가장 낮은 성장률을 보였다(Figure 1(A)). [15]의 연구결과에 따르면, *Scenedesmus*종은 27 °C의 온도일 때 가장 좋은 성장이 이루어졌고, [16]의 연구결과에서는 302.7 K (29.55 °C)에서 최대 성장률을 보였다고 하였으며, 본 연구결과가 두 연구결과와 유사하였다.

탄소원으로 이용되는 CO₂의 용해도 및 가용성에 중요한 영향을 미치는 pH는 3, 5, 7, 10으로 총 4가지의 pH 조건에서 성장을 측정하였다. *Scenedesmus obliquus*는 중성인 pH 7일 때 가장 높은 성장률을 보였고, pH가 높거나(pH 10) 낮을(pH 3) 경우 성장률이 저조하거나 성장이 이루어지지 않았다(Figure 1(B)). 또한, *Scenedesmus obliquus*는 중성인 pH 6에서 최대 성장률을 보였다는 [17]의 연구결과와 유사하였다. [14]의 연구결과에 따르면, 다른 녹조류 종인 *Chlorella vulgaris* 또한 pH 7~7.5 정도에서 가장 좋은 성장률을 보였다.

광주기(light : dark cycle) 조건에 따른 *Scenedesmus obliquus*의 성장 측정은 10 : 14, 12 : 12, 14 : 10 h으로 총 3가지 조건에서 이루어졌다. Light intensity가 강한 14 : 10 h일 때 가장 높은 성장률을 보였

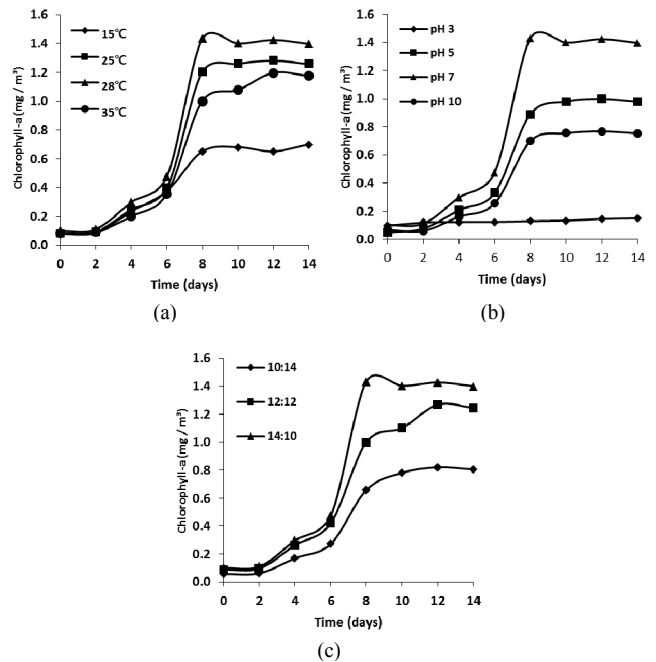


Figure 1. Growth curve of *Scenedesmus obliquus* according to optimum conditions for (a) temperature (15, 25, 28, and 35 °C), (b) pH (3, 5, 7, and 10), and (c) light : dark cycle (L : D = 10 : 14, 12 : 12 h, and 10 : 14) during the 14 days.

고, light intensity가 약한 10 : 14 h일 때 가장 낮은 성장률을 보였다(Figure 1(C)). 미세조류는 생산적인 광합성을 위해 적절한 광주기가 필요하다. Adenosine triphosphate (ATP), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH)가 생산되는 광화학적 단계가 진행되기 위해 light가 요구되고, dark는 생화학적 단계에서 성장을 위해 필수적인 분자를 합성하는데 요구된다[19]. 본 연구결과는 light intensity가 길어질수록 ATP와 NDAPH를 충분히 생성시킴으로써 미세조류의 성장이 증가한다는 기존의 다른 연구결과에 부합하였다[20,21]. 따라서 배양조건에 따른 성장의 연구결과를 토대로 이후의 영양염류(N, P)와 중금속(Cu, Zn)에서의 성장 및 제거율 실험은 28 °C, pH 7, 14 : 10 h의 조건하에서 실험을 진행하였다.

3.2. 영양염류(N, P)에 따른 성장과 제거율

*Scenedesmus obliquus*의 성장에 영향을 미치는 또 다른 요인인 영양염류(N, P)에 의한 성장의 영향과 제거율을 확인하기 위해 질소와 인의 단일 및 혼합 처리구는 각 500, 1,000, 5,000, 10,000 mg/L의 농도로 설정하였다. 질소와 인의 각 단일 및 혼합 처리구 500 mg/L일 때 가장 높은 성장을 보였고, 농도가 증가할수록 성장이 저해되었다(Figure 2). 또한, 질소와 인의 단일처리구와 혼합처리구의 성장은 유사한 양상을 보였다. 본 연구결과는 미세조류를 대량 배양하기 위해서 질소 농

Table 3. Removal Efficiency of Total Nitrogen (T-N) by *Scenedesmus obliquus* in the Single Treatments, Respectively

Total nitrogen conc. (mg/L)	500	1,000	5,000	10,000
Initial conc. (mg/L)	500 ± 2.08	1,000 ± 1.00	5,051 ± 1.53	10,010 ± 2.08
After biotreatment (mg/L)	150 ± 0.61	400 ± 2.08	4,008 ± 1.00	8,245 ± 0.38
Removal efficiency (%)	70.0	60.0	20.6	17.6

Table 4. Removal Efficiency of Total Phosphorus (T-P) by *Scenedesmus obliquus* in the Single Treatments, Respectively

Total phosphorous conc. (mg/L)	500	1,000	5,000	10,000
Initial conc. (mg/L)	500 ± 1.73	1,000 ± 1.00	5,000 ± 0.66	10,707 ± 0.19
After biotreatment (mg/L)	330 ± 1.00	907 ± 1.89	4,550 ± 1.01	9,806 ± 0.58
Removal efficiency (%)	34	9.3	9	8.4

Table 5. Removal Efficiencies of Total Nitrogen (T-N) and Total Phosphorus (T-P) by *Scenedesmus obliquus* in the Binary Mixed Treatments, Respectively

Treatment	Initial conc. (mg/L)	After biotreatment (mg/L)	Removal efficiency (%)
500 mg/L	T-N	210 ± 1.02	58
	T-P	299 ± 0.72	40.3
1,000 mg/L	T-N	790 ± 1.53	21.4
	T-P	884 ± 1.50	11.7
5,000 mg/L	T-N	4,150 ± 2.08	17
	T-P	4,700 ± 0.74	6
10,000 mg/L	T-N	8,800 ± 2.08	12
	T-P	9,700 ± 2.08	3

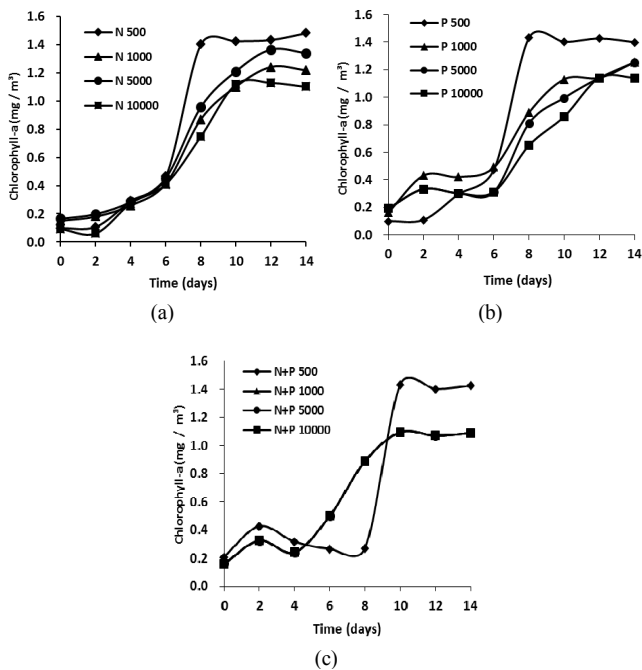


Figure 2. Growth curve of *Scenedesmus obliquus* in synthetic wastewater containing single and binary mixed nutrients; (a) Total Nitrogen (T-N), (b) Total Phosphorus (T-P), and (c) binary mixed nutrients (N + P) during the 14 days.

도가 25~5,000 mg/L일 때 적합하고, 2~619 mg/L의 농도일 때 가장 높은 생산성을 보인다는 [22]의 연구결과와 유사하였다. 또한, 고농도의 질소 처리구는 저농도 처리구와 비교하여 미세조류의 성장에 효과적인 영향을 미치지 않고, 성장 저해를 초래한다는 [23]의 연구결과와 일치했다. [24]에 보고된 바와 같이 NH₄⁺-N의 농도가 높을수록(> 500 mg/L) 미세조류 세포의 내부 NH₄⁺ 농도가 증가했기 때문에 미세조류 성장에 유해한 효과를 나타냈다. 인은 일반적으로 미세조류 내 orthophosphate (PO₄²⁻) 등의 형태로 흡수되고, 정상적인 성장과 미세조류 세포 발달에 필요한 중요한 성분으로 작용한다[25,26]. 본 연구 결과에서 다양한 농도의 영양염류가 초기 기간을 제외하고 연구 기간 동안 미세조류의 성장에 중요한 영향을 미쳤다.

질소는 14일간 농도별로 총 17.6~70% 제거율을 보였다(Table 3). 질소의 농도가 500 mg/L일 때 70%의 질소 제거율로 가장 높은 제거율을 보였고, 10,000 mg/L에서 17.6%로 가장 저조한 제거율을 나타냈다. 인은 14일간 농도별로 총 8.4~34% 제거율을 보였다(Table 4). 인의 농도가 500 mg/L일 때 34%로 가장 높은 제거율을 보였고, 10,000 mg/L에서 8.4%로 가장 저조한 제거율을 나타냈다. 질소와 인의 혼합 농도가 500 mg/L일 때 질소는 58%, 인은 40.3%로 가장 높은 제거율을 보였고, 10,000 mg/L에서 질소는 12%, 인은 3%로 가장 저조한 제거율을 나타냈다(Table 5). 질소와 인의 단일 처리구 제거율과 유사한 양상을 보였지만 대체적으로 질소 단일 처리구의 제거율보다 저조했고, 인 단일 처리구의 제거율 보다 높았다. 하지만, 공통적으로 질소와 인의 단일 및 혼합처리구에서 제거된 영양염류의 양은 제거율이 낮을수록 증가하였다. 이는 인공폐수 중에 있는 각 영양염류의 양이 *Scenedesmus obliquus*의 영양염류 제거 능력보다 더 많기 때문에 제거되고 남은 중

Table 6. Removal Efficiency of Copper (Cu) by *Scenedesmus obliquus* in the Single Treatments, Respectively

Cu conc. (mg/L)	10	30	50
Initial conc. (mg/L)	10 ± 1.05	30 ± 0.20	51 ± 0.58
After biotreatment (mg/L)	6 ± 0.12	24 ± 0.20	44 ± 0.15
Removal efficiency (%)	40.3	20.0	13.7

Table 7. Removal Efficiency of Zinc (Zn) by *Scenedesmus obliquus* in the Single Treatments, Respectively

Zn conc. (mg/L)	10	30	50
Initial conc. (mg/L)	10 ± 1.50	30 ± 1.34	50 ± 1.35
After biotreatment (mg/L)	7 ± 0.19	27 ± 0.30	45 ± 0.95
Removal efficiency (%)	30.0	10.0	10.0

Table 8. Removal Efficiencies of Copper (Cu) and Zinc (Zn) by *Scenedesmus obliquus* in the Binary Mixed Treatments, Respectively

Treat.	Initial conc. (mg/L)	After biotreatment(mg/L)	Removal efficiency (%)
10 mg/L	Cu	10 ± 0.58	6 ± 0.34
	Zn	10 ± 0.40	8 ± 0.27
30 mg/L	Cu	30 ± 1.00	23 ± 0.10
	Zn	30 ± 0.93	26 ± 0.05
50 mg/L	Cu	50 ± 0.58	42 ± 0.15
	Zn	50 ± 0.07	44 ± 0.35

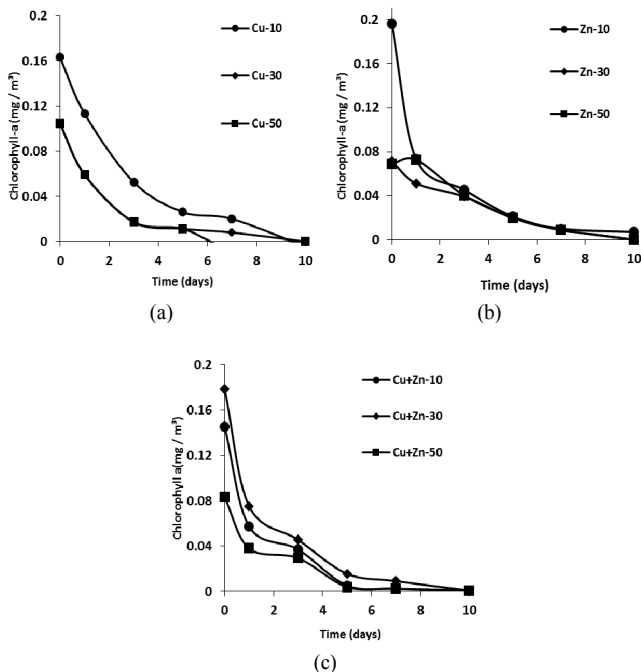


Figure 3. Growth curve of *Scenedesmus obliquus* in synthetic wastewater containing single and binary mixed heavy metals; (a) copper (Cu), (b) zinc (Zn), and (c) binary mixed heavy metals (Cu + Zn) during the 14 days.

금속의 양이 증가하여 상대 값인 제거율이 낮아지는 것으로 판단된다 [27]. 또한, 공통적으로 농도가 증가할수록 성장률과 제거율이 저조하였다. [28]의 연구결과에 따르면 미세조류의 성장은 배지 내 질소와 인

의 농도 비에 영향을 받으며, 고정된 인의 농도에서 배지 내 과량의 질소를 제거할 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구결과를 통해 *Scenedesmus obliquus*의 영양염류 제거는 성장률과 관련이 있다고 사료된다.

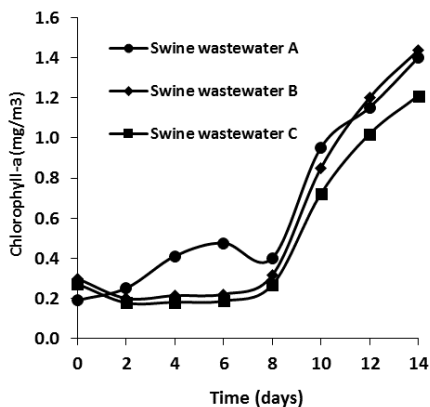
3.3. 중금속(Cu, Zn)에 따른 성장과 제거

*Scenedesmus obliquus*는 Cu의 농도가 10 mg/L일 때 가장 높은 성장률을 보였고, 농도가 증가함에 따라 성장률이 감소하였다(Figure 3(A)). Zn에서의 성장은 10 mg/L일 때 가장 높았지만, 시간이 경과함에 따라서 성장은 농도별로 유의한 차이가 없었다(Figure 3(B)). Cu와 Zn 혼합 처리구의 성장은 30 mg/L일 때 가장 높았지만, 시간이 경과함에 따라서 성장은 농도별로 유의한 차이가 없었다(Figure 3(C)). *Scenedesmus obliquus*의 성장은 중금속의 단일 및 혼합 처리구에서 유사한 양상을 보였고, 모든 처리구에서 시간이 경과함에 따라서 성장이 저해되었다. 또한, *Scenedesmus obliquus*의 성장에서 Cu보다 Zn의 저해효과가 강한 것으로 나타났다.

Cu는 10, 30, 50 mg/L 농도별로 각 40.3%, 20.0%, 13.7%의 제거율을 보였다(Table 6). Zn은 10, 30, 50 mg/L 농도별로 각 30.0, 10.0, 10.0%의 제거율을 보였다(Table 7). Cu와 Zn의 혼합 처리구 10 mg/L에서 Cu 40.0%, Zn 20.0%가 제거되었고, 30 mg/L에서 Cu 23.3%, Zn 13.3%가 제거되었고, 50 mg/L에서 Cu 16.0%, Zn 12.0%가 제거되었다(Table 8). *Scenedesmus obliquus*는 단일 및 혼합 중금속 처리 시 Zn에 비해 Cu를 더 효과적으로 제거하는 것으로 나타났다. 미세조류는 세포벽 표면의 다당류, 단백질 또는 지질로 인해 높은 금속 이온을 bioaccumulation 및 biosorption 할 수 있다[29]. Biosorption은 죽은 유기체를 사용하여 세포벽 또는 고분자물질에 중금속이 부착되어 제거되는 형태로 대사 비의존형이며, bioaccumulation의 첫 단계이다[30]. Bioaccumulation은 대사의존형으로 전자전달계, 효소, 에너지 소비 등을 이용하여 세포막을 거쳐 세포 내로 중금속이 축적되며 살아있는 유기체에서만 발생된다[31].

Table 9. Removal Efficiencies of the Nutrients (Total Nitrogen (T-N) and Total Phosphorus (T-P)) and Heavy Metals (Cu and Zn) from Swine Wastewater Samples (A, B and C) by *Scenedesmus obliquus*

Wastewater samples		T-N	T-P	Cu	Zn
Swine wastewater A	Initial conc. (mg/L)	6,952 ± 1.80	868 ± 1.05	15 ± 0.26	59 ± 0.68
	After biotreatment (mg/L)	5,570 ± 2.08	815 ± 1.98	8 ± 0.92	52 ± 0.95
	Removal efficiency (%)	19.9	6.1	46.7	11.9
Swine wastewater B	Initial conc. (mg/L)	5,418 ± 1.06	991 ± 0.87	35 ± 2.05	75 ± 1.47
	After biotreatment (mg/L)	4,497 ± 1.53	931 ± 0.70	28 ± 0.85	69 ± 0.58
	Removal efficiency (%)	17.0	6.1	20.0	8.0
Swine wastewater C	Initial conc. (mg/L)	6,617 ± 1.95	492 ± 3.53	25 ± 1.50	41 ± 1.45
	After biotreatment (mg/L)	5,492 ± 0.94	462 ± 1.04	20 ± 0.67	35 ± 0.50
	Removal efficiency (%)	17.0	6.1	20.0	14.6

**Figure 4. Growth curve of *Scenedesmus obliquus* in swine wastewater samples (A, B, C) during the 14 days.**

따라서 본 연구에서는 인공폐수 내 중금속이 살아있는 *Scenedesmus obliquus*의 세포 내로 축적되어 중금속 농도가 감소된 것으로 사료된다. 반면, 공통적으로 제거율이 낮을수록 제거된 중금속의 양은 증가하였는데, 인공폐수 중 중금속이 *Scenedesmus obliquus*의 제거 능력을 초과할 정도로 존재하기 때문으로 판단된다. 중금속의 낮은 제거율을 개선하기 위하여 추가적으로 최대 제거 효율을 나타낼 수 있는 주입량에 대한 kinetic model을 제작하여 적정 주입량을 설정하여 보완해야 할 것으로 사료된다.

3.4. 실제 축산폐수 적용 가능성 평가

이전 인공폐수에서의 연구결과를 바탕으로 *Scenedesmus obliquus*의 실제 축산폐수에 대한 적용가능성을 평가하였다. 축산폐수 A, B, C에서 모두 약 8일 동안의 lag phase를 거쳐 그 이후에는 log phase로 생장률이 증가한 것을 볼 수 있었다(Figure 4). 또한, 배지와 인공폐수 성장에서 보다는 높은 생장률을 보여 현장적용성에 적합함을 보여주었다.

Table 9는 축산폐수 3곳에 대한 중금속(Cu, Zn)과 영양염류(N, P)의 제거율을 나타낸 결과이다. 인공폐수와는 달리 고농도의 실제 축산폐수에서 미세조류는 부유물에 의해 빛의 전달이 방해받고, 유기물이나 암모니아성 질소의 농도가 높을 경우 성장이 저해된다[18]. 그렇기 때문에, 본 연구결과에서 *Scenedesmus obliquus*의 성장은 인공폐수보다 축산폐수에서 긴 lag phase를 가지며 느린 성장속도를 보였다. 하지만, 이후 긴 log phase로 활발하게 성장이 이루어졌다. 또한, *Scenedesmus*

*obliquus*의 축산폐수 내 영양염류 및 중금속 제거율은 인공폐수와 유사한 경향을 보였다. 따라서, *Scenedesmus obliquus*를 이용한 축산폐수 처리에 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단된다. 하지만, 실제 폐수에서 제거된 오염물질의 양은 총 질소 약 921~1,382 mg/L, 총 인 약 30~60 mg/L, Cu 약 5~7 mg/L, Zn 약 6~7 mg/L가 제거되었다. 제거율이 높아도 제거된 양은 낮았으며, 인공폐수의 제거효율보다 더 낮게 나타났다. 실제 현장 폐수에서는 인공폐수와는 다른 다양한 환경조건들로 인해 *Scenedesmus obliquus*의 활성화에 많은 영향을 미쳤기 때문이라고 사료된다. 이에 따라, 미세조류가 결합된 생물 담체를 제조하거나, 미세조류와 공생관계를 가진 생물을 결합하여 co-culture를 하는 등의 추가 연구를 통해 제거 효율을 높일 수 있을 것으로 예상된다. 생물 담체의 경우 비교적 단시간 내 흡착반응이 진행되기 때문에 다량의 오염물질을 신속하게 제거할 수 있으며[32], 반응이 상온에서 이루어지므로 환경조건에 의해 영향을 받는 부분들이 많이 줄어들 수 있다. 또한, co-culture 기술은 autotrophic 미세조류와 heterotrophic 생물체를 결합하여 서로 성장에 필요한 산소와 이산화탄소를 공급함으로써 공생관계를 유지하여 자립적인 성장환경을 만든다. 하지만, 대안으로 제시한 연구들은 *Scenedesmus obliquus*를 적용시킨 연구의 사례가 드물며, 추가적인 연구를 통해 제거효율의 향상 가능성을 파악해야 할 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구의 결과를 통해 *Scenedesmus obliquus*의 최적 배양조건은 온도 28 °C, pH 7, 광주기(light : dark cycle) 14 : 10 h의 조건으로 확립하였다. 영양염류의 단일 및 복합 처리구(각 500, 1,000, 5,000, 10,000 mg/L)와 중금속(Cu, Zn)의 단일 및 혼합 처리구(10, 30, 50 mg/L)에서 농도가 감소할수록 생장율과 제거율이 높았다. 또한, *Scenedesmus obliquus* 중금속 처리 효율은 Zn에 비하여 Cu가 높은 것으로 나타났다. 실제 축산폐수에 *Scenedesmus obliquus*를 적용시켰을 때 축산농가 샘플(A, B, C)의 생장률, 영양염류(N, P)와 중금속(Cu, Zn)의 처리효율은 인공폐수와 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 본 연구의 결과를 통해 *Scenedesmus obliquus*는 축산폐수 내 존재하는 영양염류(N, P) 및 중금속(Cu, Zn)의 거동특성을 파악하여, 폐수 처리에 적용할 수 있다는 것을 확인하였다. 또한, 본 연구결과에서 오염물질의 낮은 제거 효율을 미세조류를 결합한 생물 담체와 공생관계를 통한 co-culture의 추가 실험을 통해 향상시킬 필요가 있을 것으로 사료된다.

감 사

본 연구는 한국연구재단의 이공학 개인기초연구지원사업 연구비지원(과제번호 2016R1D1A1B03931634)에 의해 수행되었습니다.

References

- H. Doshi, A. Ray, and I. L. Kothari, Biosorption of cadmium by live and dead Spirulina: IR spectroscopic, kinetics, and SEM studies, *Curr. Microbiol.*, **54**(3), 213-218 (2007).
- D. Obaja, S. Mace, J. Costa, C. Sans, and J. Mata alvarez, Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor, *Bioresour. Technol.*, **87**(1), 103-111 (2003).
- C. Vohla, M. Kõiv, H. J. Bavor, F. Chazarenc, and Ü. Mander, Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands - A review, *J. Ecol. Eng.*, **37**(1), 70-89 (2011).
- J. Ruiz, Z. Arbib, P. D. Álvarez-Díaz, C. Garrido-Pérez, J. Barragán, and J. A. Perales, Influence of light presence and biomass concentration on nutrient kinetic removal from urban wastewater by *Scenedesmus obliquus*, *J. Biotechnol.*, **178**, 32-37 (2014).
- A. Richmond and J. U. Grobbelaar, Factors affecting the output rate of *Spirulina platensis* with reference to mass cultivation, *Biomass*, **10**(4), 253-264 (1986).
- P. S. Lau, N. F. Y. Tam, and Y. S. Wong, Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater, *J. Environ. Pollut.*, **89**(1), 59-66 (1995).
- Q. X. Kong, L. Li, B. Martinez, P. Chen, and R. Ruan, Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **160**(1), 9-18 (2010).
- S. Sánchez, M. Martínez, M. T. Espejo, R. Pacheco, F. Espinola, and G. Hodaifa, Mixotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with olive-mill wastewater as the nutrient medium, *J. Appl. Phycol.*, **13**(5), 443-449 (2001).
- J. Shi, B. Podola, and M. Melkonian, Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: An experimental study, *J. Appl. Phycol.*, **19**(5), 417-423 (2007).
- K. Y. Park, Potential use of microalgae *Scenedesmus acuminatus* for tertiary treatment of animal wastewater, *J. Korean Soc. Agric. Eng.*, **53**(1), 63-69 (2011).
- M. K. Kim, J. W. Park, C. S. Park, S. J. Kim, K. H. Jeune, M. U. Chang, and J. Acreman, Enhanced production of *Scenedesmus* spp.(green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater, *Bioresour. Technol.*, **98**(11), 2220-2228 (2007).
- M. M. Sancho, J. J. Castillo, and F. El Yousfi, Photoautotrophic consumption of phosphorus by *Scenedesmus obliquus* in a continuous culture. Influence of light intensity, *Process Biochem.*, **34**(8), 811-818 (1999).
- D. G. Kim, H. J. La, C. Y. Ahn, Y. H. Park, and H. M. Oh, Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures, *Bioresour. Technol.*, **102**(3), 3163-3168 (2011).
- H. J. Choi and S. M. Lee, Effect of temperature, light intensity and pH on the growth rate of *Chlorella vulgaris*, *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **33**(7), 511-515 (2011).
- K. O. Cassidy, *Evaluating Algal Growth at Different Temperatures*, MS Thesis, University of Kentucky, Lexington, U.S.A. (2011).
- G. Hodaifa, M. E. Martínez, and S. Sánchez, Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium, *Eng. Life Sci.*, **10**(3), 257-264 (2010).
- A. C. Guedes, H. M. Amaro, R. D. Pereira, and F. X. Malcata, Effects of temperature and pH on growth and antioxidant content of the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Biotechnol. Prog.*, **27**(5), 1218-1224 (2011).
- E. J. Oh, I. S. Hwang, J. Yoo, and K. Y. Chung, Removal of Nutrients and Heavy Metals from the Swine Wastewater by *Chlorella vulgaris*, *J. Environ. Sci. Int.*, **27**(11), 1059-1072 (2018).
- M. Al-Qasbi, N. Raut, S. Talebi, S. Al-Rajhi, and T. Al-Barwani, A review of effect of light on microalgae growth, *Proceedings of the World Congress on Engineering*, July, 4-6, WCE, London, U.K., **1**, 4-6 (2012).
- R. Bouterfas, M. Belkoura, and A. Dauta, The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake, *Limnetica*, **25**(3), 647-656 (2006).
- Y. Xu, I. M. Ibrahim, and P. J. Harvey, The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (chlorophyta) CCAP 19/30, *Plant Physiol. Biochem.*, **106**, 305-315 (2016).
- E. S. Mostert and J. U. Grobbelaar, The influence of nitrogen and phosphorus on algal growth and quality in outdoor mass algal cultures, *Biomass*, **13**(4), 219-233 (1987).
- Y. Li, M. Horsman, B. Wang, N. Wu, and C. Q. Lan, Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **81**(4), 629-636 (2008).
- T. Källqvist and A. Svenson, Assessment of ammonia toxicity in tests with the microalga, *Nephroselmis pyriformis*, Chlorophyta, *Water Res.*, **37**(3), 477-484 (2003).
- M. A. Borowitzka, Limits to growth. In: Y. S. Wong and N. F. Y. Tam (eds). *Wastewater Treatment with Algae*, 203-226. Springer. Berlin, Heidelberg, Germany (1998).
- A. Mangaiyarkarasi, D. Geetha ramani, and M. Naveena, Optimization of fertilizer based media for the cultivation of scenedesmus species, *Int. J. Pharma Bio Sci.*, **8**(3), 615-621 (2017).
- C. J. Park, J. E. Yang, K. R. Ryu, Y. S. Zhang, and W. I. Kim, Development of adsorbent for heavy metals by activation of the bark, *Korean J. Environ. Agric.*, **23**(4), 240-244 (2004).
- M. K. Park, S. J. Lee, H. H. Seo, H. S. Kim, Y. H. Kim, B. D. Yoon, and H. M. Oh, Advanced treatment of swine wastewater by a green alga, *Scenedesmus quadricauda*, *Algae*, **13**(2), 227-233 (1998).
- D. Bulgariu and L. Bulgariu, Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass, *Bioresour. Technol.*, **103**(1), 489-493 (2012).
- I. B. Kim, J. H. Suh, and H. S. Lee, Biosorption process for removing heavy metals in aqueous solution(II), *J. Korean Soc. Environ. Adm.*, **7**(1), 77-85 (2001).
- M. Zabochnicka-Świątek and M. Krzywonos, Potentials of biosorption and bioaccumulation processes for heavy metal removal, *Pol. J. Environ. Stud.*, **23**(2), 551-561 (2014).
- H. N. Seo, M. H. Lee, and S. K. Wang, Development of a mathematical model for simulating removal mechanisms of heavy metals using biocarrier beads, *J. Soil Groundw. Environ.*, **18**(4), 8-18 (2013).