

*Ankistrodesmus bibraianus*의 최적 배양조건 설정을 통한 수질오염물질 제거 및 축산 폐수 처리 적용

황인성¹, 박영민, 이예은, 김덕원, 박지수, 오은지, 유진², 정근욱*

충북대학교 농업생명환경대학 환경생명화학학과, ¹충청북도 동물위생연구소 축산물검사와, ²경기연구원 생태환경연구실

Removal of water pollutants and its application to swine wastewater treatment through the establishment of best optimal growth conditions of *Ankistrodesmus bibraianus*

In-Seong Hwang¹, Young-Min Park, Ye-Eun Lee, Deok-Won Kim, Ji-Su Park, Eun-Ji Oh,
Jin Yoo² and Keun-Yook Chung*

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

¹Animal Products Inspection Division, Chungbuk Livestock and Veterinary Service, Cheongju 28153, Republic of Korea

²Department of Ecology & Environment, Gyeonggi Research Institute, Suwon 16207, Republic of Korea

*Corresponding author

Keun-Yook Chung
Tel. 043-261-3383
E-mail. kychung@cbnu.ac.kr

Received: 15 October 2019

First Revised: 29 November 2019

Second Revised: 17 February 2020

Revision accepted: 17 February 2020

Abstract: Since swine wastewater contains high concentrations of nutrients and heavy metals, it deteriorates water quality when discharged. Compared to conventional methods, bioremediation can be a promising method for its treatment. Specifically, microalgae have the potential to remove these pollutants. In this study, the removal of nutrients (nitrogen (N) and phosphorus (P)) and heavy metals (copper (Cu) and zinc (Zn)) from swine wastewater by *Ankistrodesmus bibraianus* was evaluated and the organism's optimal growth conditions were investigated. The optimal growth conditions were established at 28°C, pH 7, and light and dark cycles of 14:10 h. The removal efficiencies of N and P by a single treatment (500, 1,000, 5,000, and 10,000 mg L⁻¹) ranged from 22.9 to 80.6% and from 11.9 to 50.0%, respectively. The removal efficiencies of N and P in the binary treatments ranged from 16.4 to 58.3% and from 7.80 to 49.8%, respectively. The removal efficiencies of Cu and Zn by a single treatment (10, 30, and 50 mg L⁻¹) ranged from 15.5 to 81.5% and from 6.28 to 34.3%, respectively. Similarly, the removal efficiencies of Cu and Zn in the binary treatments ranged from 16.7 to 74.5% and from 5.58 to 27.5%, respectively. In addition, the study showed the optimal growth conditions for microalgae and the removal efficiency of nutrients (N and P) and heavy metals (Cu and Zn), which could be applied to swine wastewater. Based on the results in this study, it appears that *Ankistrodesmus bibraianus* could be used for the removal of nutrients and heavy metals present in swine wastewater.

Keywords: *Ankistrodesmus bibraianus*, best optimal growth condition, nutrient, heavy metal, swine wastewater

서 론

1990년대 이후부터 축산시장의 개방과 지속적인 생산 기반 투자에 힘입어 축산 농가의 규모가 급속히 증가하고 있다. 이에 따라 가축 분뇨가 대량으로 발생하여, 축산 폐수 처리에 많은 어려움을 겪고 있다(Kim *et al.* 2008). 현재 우리나라에서는 축산 폐수로 인한 수질오염을 효과적으로 방지하기 위하여 법률을 제정하였다. 그러나 법적 규제 대상이 되지 않는 영세규모의 축산 농가에서 방출되는 폐수는 처리되지 않은 상태로 상하수권으로 유입되고 있다. 또한, 현재까지 축산 폐수에 대해 경제적이고 효율적인 처리 방법이 제시되지 않고 있다. 그렇기 때문에, 축산 폐수는 현재 우리나라 지하수 오염의 주원인으로 자리잡고 있다.

가축 분뇨가 포함된 축산 폐수는 유기물과 영양염류 함량이 높기 때문에 일반적인 폐수처리기술을 적용하여 처리하는 것은 현실적으로 어려움이 있다. 또한, 사료나 약품으로 인한 중금속 함유, 악취 및 병원성 미생물 전파 등 다양한 문제점을 가지고 있다. 그래서 일반폐기물과 비교해 상대적으로 다루기 어려운 폐기물로 알려져 있고, 적합한 폐수 처리가 필수적으로 요구되고 있다(Jung *et al.* 1998).

보편적으로 사용되는 축산 폐수 처리는 대규모 장치를 이용하지만, 효율성이 없고 과도한 유지비가 든다. 또한, 설비 투자에 어려움이 있기 때문에 효율적인 축산 폐수 처리를 기대하기 어렵다(Lee 1999). 이외 축산 폐수 처리 방법으로는 퇴비화 방법이 있다. 퇴비화 방법은 고형분을 대상으로 도입된 가축 분뇨 처리 기술이다. 그렇기 때문에, 가축 분뇨가 포함되어 배출되는 축산 폐수에 대해서 별도의 처리 방법이 필요하다.

최근 고농도의 유기물, 영양염류와 중금속을 함유한 축산 폐수를 처리하기 위한 방법으로 생물학적 처리가 많은 관심을 받고 있다. 생물학적 처리는 폐수 내에 존재하는 유기물 중에서 생물에 의하여 분해 가능한 유기물을 조류, 박테리아, 원생동물 등의 미생물로 제거하는 방법이다. 생물학적 처리 방법은 친환경적인 녹색 정화기술로, 환경에 대한 2차 오염 우려를 해소할 수 있다(Ehrlich and Brierley 1990). 또한 생물흡착제의 종류에 따라 높은 흡착력, 선택성 및 경제성을 기대할 수 있다(Bailey *et al.* 1999).

생물학적 처리 방법 중 미세조류는 쉽게 발견되고 무기 질소와 인을 성장에 이용하므로 효율적이다(Richmond and Grobbelaar 1986; Lau *et al.* 1995). 미세조류는 물, 빛, 이산화탄소로 광합성을 하는 식물플랑크톤으로 특정 토양

과 수질을 가리지 않고 질소, 인 등의 무기염만 존재한다면 무한히 증식한다. 또한, 영양염류인 질소와 인 등을 흡수하여 증식하므로 수질개선을 위한 하수 및 폐수 처리 분야까지 이용 범위가 확장되고 있다(Kang *et al.* 2012; Kim *et al.* 2013). 축산 폐수는 대부분 유기성 물질의 구성이 높지만, 미세조류의 생육에도 적합한 것으로 알려져 있다. 그리고 고농도 암모니아로 인한 악취와 높은 BOD 등은 다른 폐수처리 방법들보다 미세조류를 이용한 처리 방법이 효율적인 것으로 평가되고 있다(Lee 1999). 그 이외에도, 미세조류 세포벽은 점착성이 있고, 전하를 갖고 있기 때문에 중금속의 흡착능력이 강하다. 또한, 세포벽 표면에 습곡이 많기 때문에 표면적이 크므로 관능기와 중금속 이온의 결합에 유리한 조건을 제공한다. 이처럼 중금속 흡착에 대하여 큰 영향을 미치고 있어 미세조류는 흡착 효율이 우수한 생물흡착제로 알려져 있다(Liang 2016).

그러나, 국내에서는 미세조류를 이용한 축산 폐수에 관한 연구가 초기 단계로 실제적인 연구가 매우 미흡하며 많은 연구가 필요한 실정이다(Lee and Park 2011; Kim 2013). 다양한 미세조류 중 *Ankistrodesmus* 종은 실제 하수에서 성장이 가능하고 바이오매스에 지질함량이 높다고 알려져 있으며(Lee *et al.* 2011), 일반적으로 하수의 토착 조류보다도 더 우월하게 성장한다. 또한, *Ankistrodesmus* 종은 *Botryococcus*, *Chlorella*, *Scenedesmus* 등 다른 보편적인 종들에 비해 연구가 부족한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 미세조류의 일종으로 *Oocystaceae* 과에 속하는 녹조류인 *Ankistrodesmus bibraianus*의 최적 배양조건을 확립하기 위해 온도, pH, 광주기에 따른 성장률을 측정하고, 영양염류(N, P) 및 중금속(Cu, Zn)이 성장에 미치는 영향과 제거효율을 확인하고자 하였다. 또한, *A. bibraianus*를 실제 축산 폐수에 적용시켜 영양염류 및 중금속 처리 효율을 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 미세조류

본 연구에서는 KCTC에서 분양받은 미세조류 *Ankistrodesmus bibraianus* (KCTC AG20735)를 이용하였다. BG-11 (Blue Green)을 사용하여 배양을 하였고(Ilavarasi 2011), 배지 조성은 Table 1과 같다. 배지에 전배양된 미세조류를 10% (v/v) 주입하여 14일 간격으로 계대 배양하였다. 배양

Table 1. Component of BG-11 (BlueGreen)

Component	Amount in distilled water (1 L)
NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	0.04 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036 g
Citric acid	0.006 g
Ferric ammonium citrate	0.006 g
EDTA	0.001 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g
Trace metal mix A5	1.0 mL

조건은 온도 28°C, pH 7, 광주기 (light : dark cycle) 14:10h 로 설정하였다. 이산화탄소는 따로 공급하지 않았으며, 광량은 식물 재배용 주황색 형광램프 (FL20SGP)를 이용하여 150 μmol m⁻² sec⁻¹로 고정하였다.

2. 최적 배양조건

*A. bibraianus*의 최적 배양조건을 설정하기 위해 온도는 MOE (2014)와 MOE (2016)를 기준으로 15, 25, 28, 35°C로 설정하였고, pH는 산성, 중성, 염기성 조건인 pH 3, 5, 7, 10으로, 광주기 (light : dark cycle)는 10:14, 12:12, 14:10h로 설정하여 각 조건별로 성장을 비교하였다. 배양은 250 mL 삼각플라스크에 BG-11 배지 200 mL를 넣고, *A. bibraianus* 0.5% (w/v)를 접종하여 14일간 배양하였다.

3. 합성 폐수

합성 폐수 내 영양염류 (N, P)와 중금속 (Cu, Zn) 농도에 따른 *A. bibraianus*의 성장과 제거효율을 확인하였다. 필요한 농도 설정은 실험에 사용된 축산 폐수인 Table 2와 국립환경과학원의 가축 분뇨에 의한 환경오염 영향 시범 조사를 기준으로 하였다 (NIER 2013).

영양염류의 단일 및 복합 합성 폐수를 제조하기 위해 BG-11배지 내 포함된 질소원 (NaNO₃)과 인원 (K₂HPO₄·3H₂O)을 제외하였다. 단일 영양염류 합성 폐수의 경우, 해당 영양염류의 농도만 달리 제조하였으며, 나머지 조성은 기존과 동일하게 첨가되었다. 영양염류 합성 폐수에서 질소원으로는 NaNO₃와 NH₄Cl을, 인원으로는 K₂HPO₄를 이용하였다. 단일 및 복합 합성 폐수의 농도는 500, 1,000, 5,000, 10,000 mg L⁻¹로 설정하였다.

Table 2. Chemical properties of swine wastewater used for the experiment

Samples	pH	T-N	T-P	Cu	Zn
		mg L ⁻¹			
Wastewater A	5.8	6,952	867	15.1	59.7
Wastewater B	6.3	5,418	990	34.8	74.7
Wastewater C	5.6	6,617	491	25.4	40.8

중금속의 단일 및 복합 합성 폐수는 배지 내 EDTA를 제거하여 중금속 제거율에 영향을 받지 않도록 하였다. 농도는 Cu standard solution (1,000 mg L⁻¹)과 Zn standard solution (1,000 mg L⁻¹)을 이용하여 10, 30, 50 mg L⁻¹로 설정하였다.

4. 축산 폐수

총 3곳 (A, B, C)의 축사시설에서 축산 폐수를 얻어 *A. bibraianus*의 현장 적용성을 평가하였다. 축산 폐수 A는 대규모 사업 단지로부터 공급받았고, B와 C는 소규모 축사시설에서 채취하였다. 3농가 모두 배출되는 수로로부터 10m 떨어진 위치에서 채취하여, 4°C에서 보관하였다. 채취한 축산 폐수는 부유물 제거 후 침전시킨 다음 필터링하여 연구에 사용하였다. 각 축산 폐수의 성상은 Table 2와 같다.

5. 분석방법

수질오염공정시험기준의 Chlorophyll-a (ES 04312.1a) 분석 방법을 이용하여 *A. bibraianus*의 성장을 측정하였다 (MOE 2011). 유리섬유여과지 (GF/C, 45 mm)로 시료를 여과한 다음 여과지를 넣은 조직 마쇄기에 아세톤과 증류수 (9+1)를 넣고 마쇄하였다. 마쇄한 시료를 4°C 암 조건에서 하루 동안 방치하여 원심분리 (500×g, 20분)하였다. 분리된 상층액은 분광광도계 UV-VIS spectrophotometer (Model UV Mini 1240 Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 663 nm, 645 nm, 630 nm, 750 nm의 파장에서 측정하였다. 각 파장에서 측정된 흡광도 값을 다음과 같은 식에 대입하여 Chlorophyll-a를 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll-a (mg m}^{-3}\text{)} = \frac{(11.64X_1 - 2.16X_2 - 0.10X_3) \times \text{상층액의 양 (mL)}}{\text{여과한 시료의 양 (L)}}$$

$$X_1 = OD_{663} - OD_{750}$$

$$X_2 = OD_{645} - OD_{750}$$

$$X_3 = OD_{630} - OD_{750}$$

영양염류는 수질오염공정시험기분법에 따라 총 질소 (T-N)와 총 인(T-P)을 측정하여 분석하였다(MOE 2011). T-N은 220 nm에서 자외선/가시선 분광법 중 산화법에 따라 분석하였으며, T-P는 자외선/가시선 분광법에 따라 880nm에서 측정하였다.

중금속 측정은 수질오염공정시험기준법에 의한 질산-황산을 이용한 전처리 방법을 사용하여 유도결합플라즈마 발광광도계 (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer, Perkin Elmer)로 분석하였다(MOE 2011). ICP-OES의 분석 조건은 RF power 1,300 KW, Nebulizer seaspray, Plasma flow 15 L min⁻¹, Auxiliary flow 0.2 L min⁻¹, Nebulizer flow 0.65 L min⁻¹과 같다.

6. 통계분석

실험 결과는 SAS package (statistical analysis system, version 9.1, SAS Institute, Inc.)를 이용하여 분석하였다. T-test, ANOVA (analysis of variance) 및 Tukey's HSD (honest significant difference) test를 실시하여 실험 결과의 유의한 차이를 확인하였다. 또한, 상관분석을 통해 실험결과 간의 상관관계를 확인하였다. 신뢰 구간은 95% 수준으로 설정하였으며, 모든 실험은 3반복 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 최적 배양조건

*Ankistrodesmus bibraianus*의 최적 배양조건을 확립하기 위해서 온도, pH, 광주기의 변화에 의한 성장을 측정하였다. 온도에 따른 *A. bibraianus*의 성장 특성을 확인하기 위해 15, 25, 28, 35°C의 조건으로 설정하였다. 본 연구결과, *A. bibraianus*의 생장률은 28°C에서 가장 높았으며, 15°C에서 가장 낮게 나타났다(Fig. 1A). 이러한 연구결과는 *A. bibraianus*와 같은 녹조류인 *Chlorella sp.*와 *Scenedesmus sp.*의 온도에 따른 생장측정 결과, 두 종류의 미세조류 모두 25~30°C에서 가장 높은 생장률을 보였다는 기존의 연구결과에 부합하였다(Kim *et al.* 2013). 또한, *A. bibraianus*

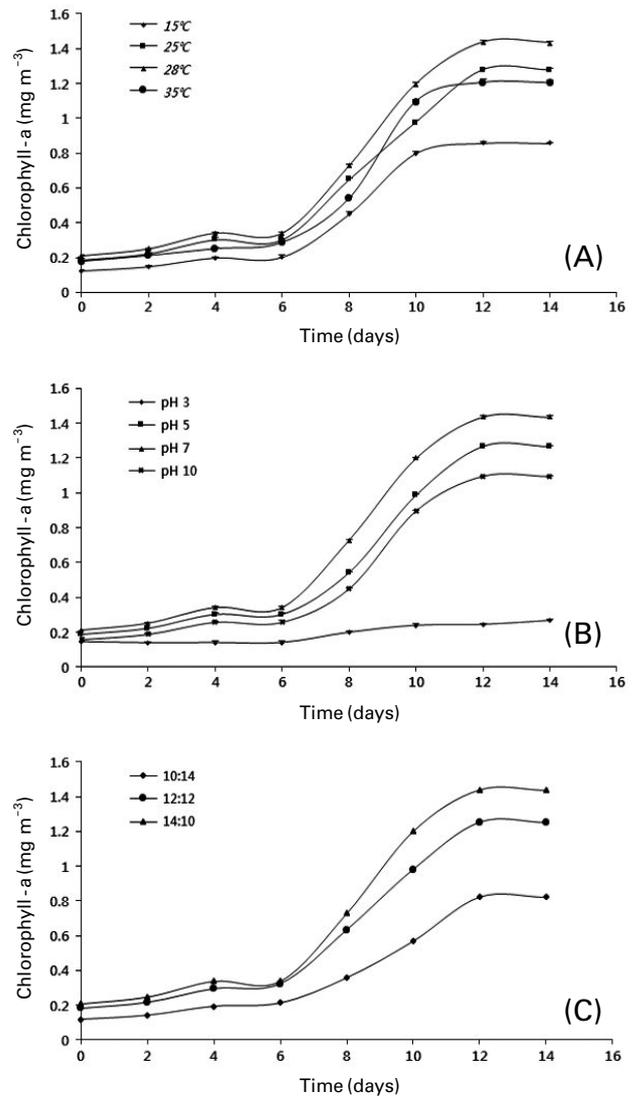


Fig. 1. Growth curves of *Ankistrodesmus bibraianus* in optimum conditions for 14 days: (A) temperature (15, 25, 28, and 35°C), (B) pH (3, 5, 7, and 10) and (C) light: dark cycle (10:14, 12:12 and 14:10 h).

와 같은 녹조류인 *Scenedesmus acuminatus*를 이용한 Park *et al.* (2011)에서 질소와 인의 제거효율을 분석할 때, 설정한 최적 온도 조건은 28~30°C였다.

pH에 따른 *A. bibraianus*의 성장 특성을 확인하기 위해 pH 3, 5, 7, 10의 조건으로 설정하였고, 본 연구결과 *A. bibraianus*는 pH 7에서 가장 좋은 성장이 이루어지는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1B). Baker *et al.* (1983)는 일반적으로 녹조류는 pH 4 이상에서 정상적으로 성장하며, *Ankistrodesmus sp.*의 경우 pH 5 조건보다 pH 7 조건에서 더욱 높은 성장을 보인다고 하였다. 또한, 본 연구결과는

Ankistrodesmus sp.가 pH 7과 pH 10에서 가장 높은 오염물질 제거효율과 바이오매스 회수율을 가진다는 이전 연구 결과에 부합하였다(Lananan *et al.* 2016).

광주기 (light : dark cycle) 조건에 따른 *A. bibraianus*의 성장 특성은 광주기가 길어질수록 *A. bibraianus*의 성장률이 증가하였고, light intensity가 강한 14:10h일 때 가장 높은 성장률을 보였다(Fig. 1C). 이러한 결과는 광주기가 길어질수록 *Chlorella vulgaris*의 성장이 증가하였다는 이전 연구 결과와 일치하였다(Oh *et al.* 2018).

온도와 광주기는 미세조류의 신진대사에 직접적인 영향을 미치며, 오염물질의 제거효율에 영향을 미치는 가장 중요한 물리적 영향 인자로 알려져 있다(Choi and Lee 2011). 또한, pH는 바이오매스 조절, 광합성, 인의 가용성, 암모니아의 독성에 관여하기 때문에 미세조류의 성장에 영향을 미친다(Azov and Goldman 1982; Lee 2001). 따라서 온도, pH, 광주기는 미세조류의 최적 배양조건을 확립하는 데 중요한 요인들이다.

본 연구에서 *A. bibraianus*의 최적 배양조건을 28°C, pH 7, 광주기 14:10h로 확립하였고, 이와 같은 배양조건을 적용하여 이후의 실험을 진행하였다.

2. 영양염류(N, P)의 합성 폐수에서 *Ankistrodesmus bibraianus*의 성장 및 제거효율

*A. bibraianus*의 영양염류에 대한 성장 및 제거효율을 확인하기 위해 질소와 인을 500, 1,000, 5,000, 10,000 mg L⁻¹ 농도로 설정한 단일 및 복합 합성 폐수에서 실험을 진행하였다. 본 연구결과, 질소와 인의 단일 및 복합 합성 폐수의 농도가 증가할수록 *A. bibraianus*의 성장이 저해되었다(Fig. 2). 본 연구결과는 *A. bibraianus*와 같은 녹조류인 *Scenedesmus obliquus*가 처리한 질소와 인의 농도가 높아질수록 성장이 저해되었다는 이전 연구결과와 일치하였다(Park *et al.* 2019). 질소와 인을 단일로 처리한 합성 폐수에서 각 농도별(500, 1,000, 5,000, 10,000 mg L⁻¹)로 질소는 80.6%, 72.3%, 22.9%, 24.9%, 인은 50.0%, 23.1%, 16.7%, 11.9%의 제거효율을 보였다($p < 0.05$). Park *et al.* (2019)은 본 연구와 동일한 질소 및 인 500 mg L⁻¹의 단일 처리구에서 *S. obliquus*를 이용하였을 때, 질소 70%, 인 34%의 제거효율을 보였다. 본 연구에서 *A. bibraianus*는 질소 80.6%, 인 50.0%로 *S. obliquus*보다 높은 영양염류 제거효율을 보였다. 또한, 질소와 인의 복합 합성 폐수에서는 각 농도별

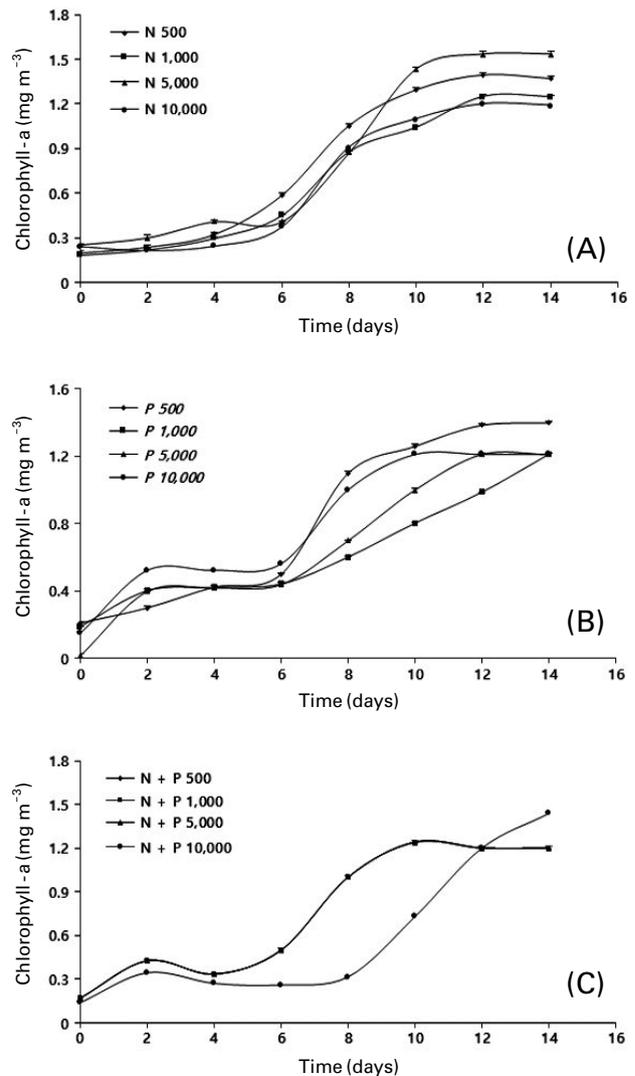


Fig. 2. Growth curves of *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single/binary mixed nutrients (N and P) treatment for 14 days: (A) N, (B) P, and (C) N+P.

(500, 1,000, 5,000, 10,000 mg L⁻¹)로, 질소 58.3%, 28.1%, 21.1%, 16.4%, 인 49.8%, 16.1%, 9.93%, 7.80%의 제거효율을 보였다($p < 0.05$). 단일 및 복합 합성 폐수에서 500 mg L⁻¹ 조건일 때 제거효율이 가장 높았으며, 농도가 증가할수록 제거효율이 감소하였다. 그리고 단일 영양염류 처리구보다 복합 처리구에서 P 500 mg L⁻¹을 제외하고 질소와 인의 제거효율이 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 5). Lee and Park (2011)은 활성슬러지와 *Ankistrodesmus gracili*를 혼합 배양하여 질소와 인의 제거에 사용하였을 때, 활성슬러지를 단일로 사용한 경우보다 영양염류의 제거효율이 각각

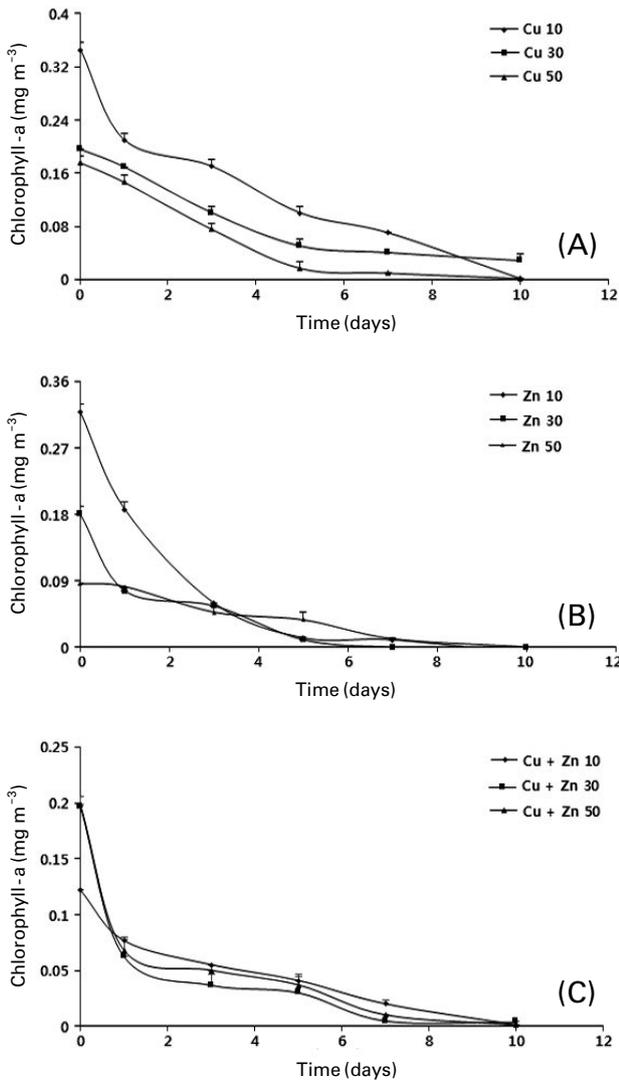


Fig. 3. Growth curves of *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single/binary mixed heavy metals (Cu and Zn) treatment for 10 days: (A) Cu, (B) Zn, and (C) Cu + Zn.

10.4%, 1.7% 향상되었다고 하였다. 본 연구와 이전의 연구 결과를 통해 미세조류 *A. bibraianus*는 질소와 인 저감에 효과적임을 확인하였다.

N과 P의 단일 처리구에서 농도 변화와 *A. bibraianus*의 성장을 상관분석하였다(Figs. 8, 9). 본 연구결과 N과 P의 농도 변화와 *A. bibraianus*의 성장은 음의 상관관계를 보였다. Conley *et al.* (2009)의 연구결과에 따르면 미세조류의 성장에 다량으로 요구되는 원소는 C, H, O, N, P로 알려져 있다. C, H, O는 N, P와 다르게 물과 대기 중에서 지속적으로 공급될 수 있어 미세조류의 성장에 크게 영향을 미칠 수 있다. 특히, 미세조류에서 N은 단백질의 주성분이

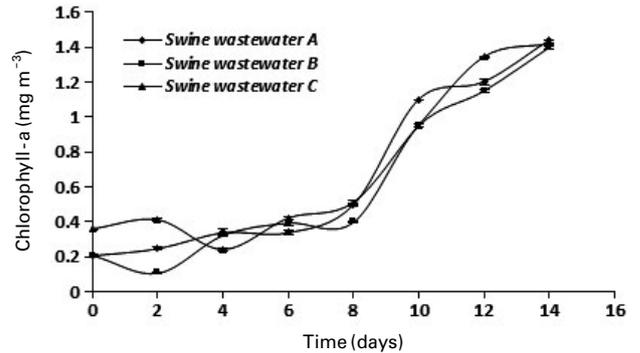


Fig. 4. Growth curve of *Ankistrodesmus bibraianus* in swine wastewater A, B, and C over 14 days.

고, P는 DNA, RNA, ATP 등의 구성 물질로 성장에 필수적인 요소이다. 이에 따라, 미세조류를 통한 영양염류 제거는 미세조류가 수중의 암모늄과 용존 인산 이온을 영양분으로 섭취하면서 이루어지는 것으로 사료된다(Lee and Park 2010).

3. 중금속(Cu, Zn)의 합성 폐수에서 *Ankistrodesmus bibraianus*의 성장 및 제거효율

*A. bibraianus*에 대한 단일 및 복합 중금속 제거 효과를 확인하기 위해 Cu와 Zn을 10, 30, 50 mg L⁻¹로 처리한 단일 및 복합 합성 폐수에서 *A. bibraianus*의 성장과 중금속 제거효율을 측정하였다. 본 연구결과, Cu와 Zn의 단일 및 복합 합성 폐수에서 농도가 증가할수록 *A. bibraianus*의 초기 성장이 저해되었으며(Fig. 3), 제거되는 중금속의 양이 줄어들었다(Fig. 6). 또한, 중금속에 대한 *A. bibraianus*의 성장 저해 효과는 Zn이 Cu보다 높은 것으로 나타났다. 중금속 단일 합성 폐수에서 각 농도별(10, 30, 50 mg L⁻¹) 제거효율은 Cu는 81.5%, 28.9%, 15.5%, Zn은 34.3%, 10.3%, 6.28%이었다($p < 0.05$). 중금속 복합 합성 폐수에서는 각 농도별(10, 30, 50 mg L⁻¹)로 Cu는 74.5%, 20.7%, 16.7%, Zn은 27.5%, 11.9%, 5.58%의 제거효율을 보였다($p < 0.05$). 단일과 복합 합성 폐수 모두 50 mg L⁻¹에서 중금속 제거효율이 가장 낮았으며, 이는 처리한 중금속의 농도가 증가할수록 조류 단위 무게당 흡착량은 증가하지만, 흡착량의 증가 폭은 작아져 조류의 흡착량이 포화에 가까워짐에 따라 흡착능력이 둔화된 것으로 사료된다(Lim 2009). Oh *et al.* (2018)의 연구결과에 따르면, 10 mg L⁻¹의 중금속 단일 처리구에서 *Chlorella vulgaris*를 이용했을 때 Cu와 Zn의 제거

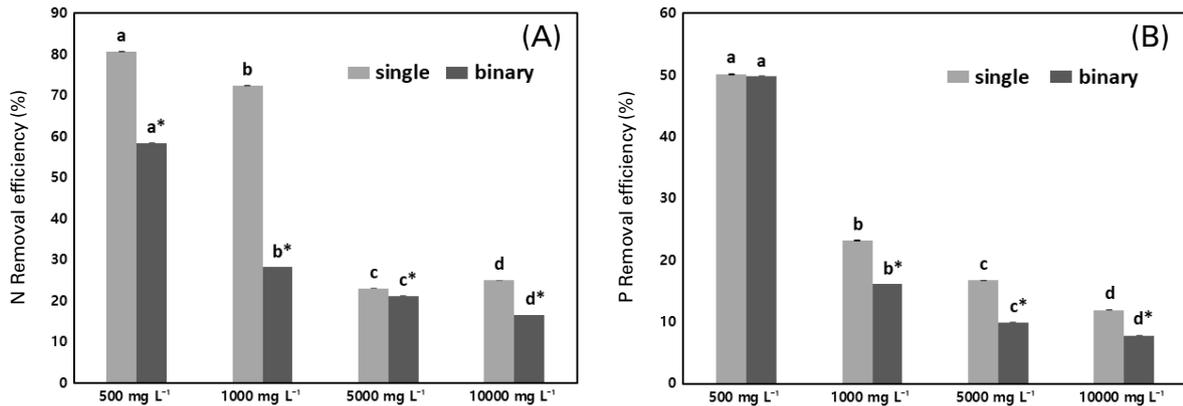


Fig. 5. Removal efficiencies of the nutrients [T-N (A) and T-P (B)] by *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single/binary mixed nutrient treatments at various concentrations for 14 days. Average removal efficiencies indicated with the same letters without and with symbols are significantly different by *t*-test at $\alpha = 0.05$ level. Average removal efficiencies indicated with different letters without and with symbols are significantly different by Tukey's multiple comparison test at $\alpha = 0.05$ level.

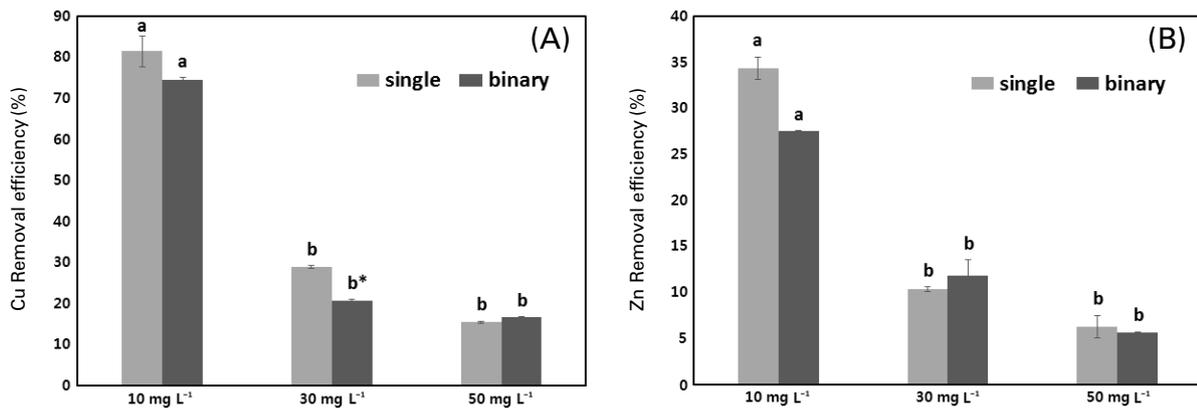


Fig. 6. Removal efficiencies of the heavy metals [Cu (A) and Zn (B)] by *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single/binary mixed nutrient treatments at various concentrations during the 14 days. Average removal efficiencies indicated with the same letters without and with symbols are significantly different by *t*-test at $\alpha = 0.05$ level. Average removal efficiencies indicated with different letters without and with symbols are significantly different by Tukey's multiple comparison test at $\alpha = 0.05$ level.

율은 각각 63%, 50%로 나타났다. 그리고 동일한 조건에서 *Scenedesmus obliquus*를 이용한 중금속 제거효율은 Cu 40%, Zn 30%였다 (Park *et al.* 2019). 반면, 본 연구에서 동일한 조건에 *A. bibraianus*를 이용하였을 때, *A. bibraianus*의 중금속 제거효율은 Cu 81.5%, Zn 34.3%로 같은 녹조류인 *C. vulgaris*와 *S. obliquus*보다 높았다. 또한, Zn 처리구보다 Cu 처리구에서 *A. bibraianus*의 성장 및 중금속 제거효율이 더 높은 것으로 보아, Zn보다 Cu에 대한 내성이 더 높으므로 사료된다. 그리고 본 연구결과에서 Cu와 Zn의 단일 및 복합 합성 폐수에서 Cu 30 mg L⁻¹를 제외하고 *A. bibraianus*의 중금속 제거효율은 통계적으로 유의한 차이를 보여주

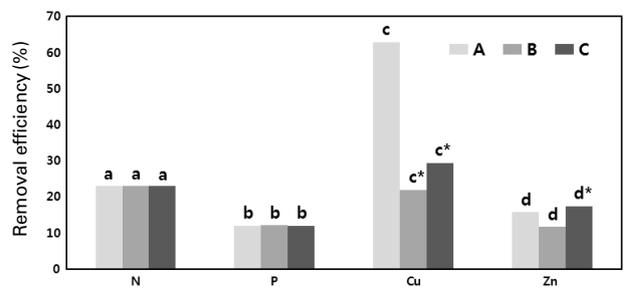


Fig. 7. Removal efficiencies of the nutrients (T-N and T-P) and heavy metals (Cu and Zn) from swine wastewaters (A, B and C) by *Ankistrodesmus bibraianus*. Average removal efficiencies with different letters are significantly different by Tukey's multiple comparison test at $\alpha = 0.05$ level.

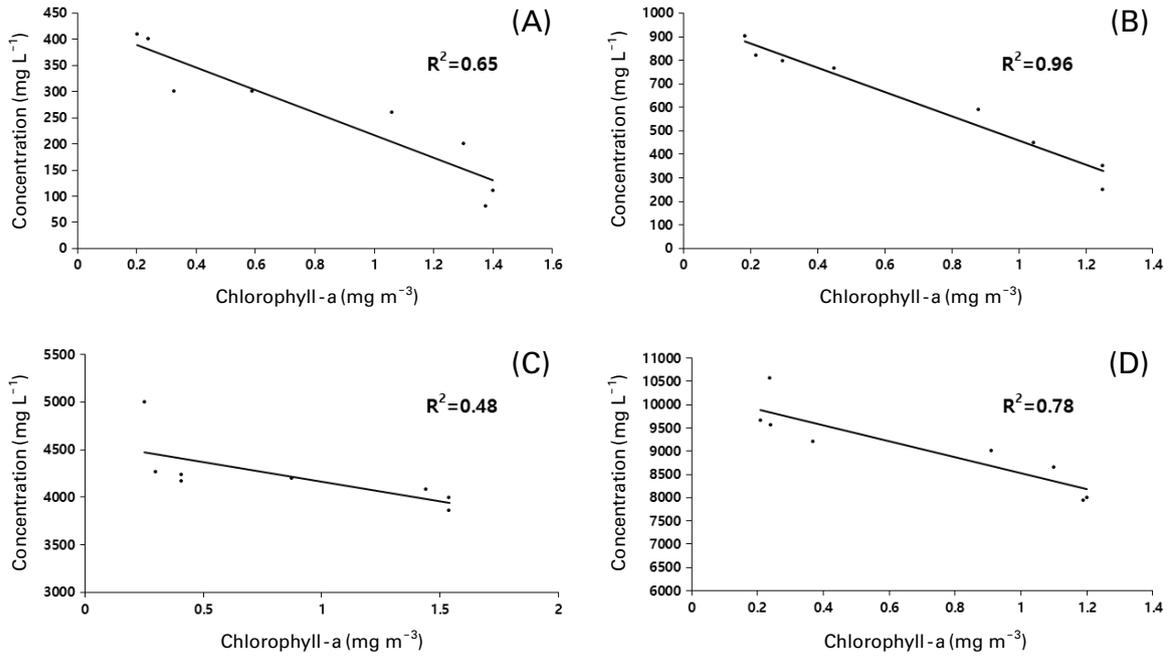


Fig. 8. Correlation between the concentration of T-N and the growth of *Ankistrodesmus bibrainus* in synthetic wastewater containing single N at various concentrations: (A) 500 mg L⁻¹, (B) 1,000 mg L⁻¹, (C) 5,000 mg L⁻¹, and (D) 10,000 mg L⁻¹.

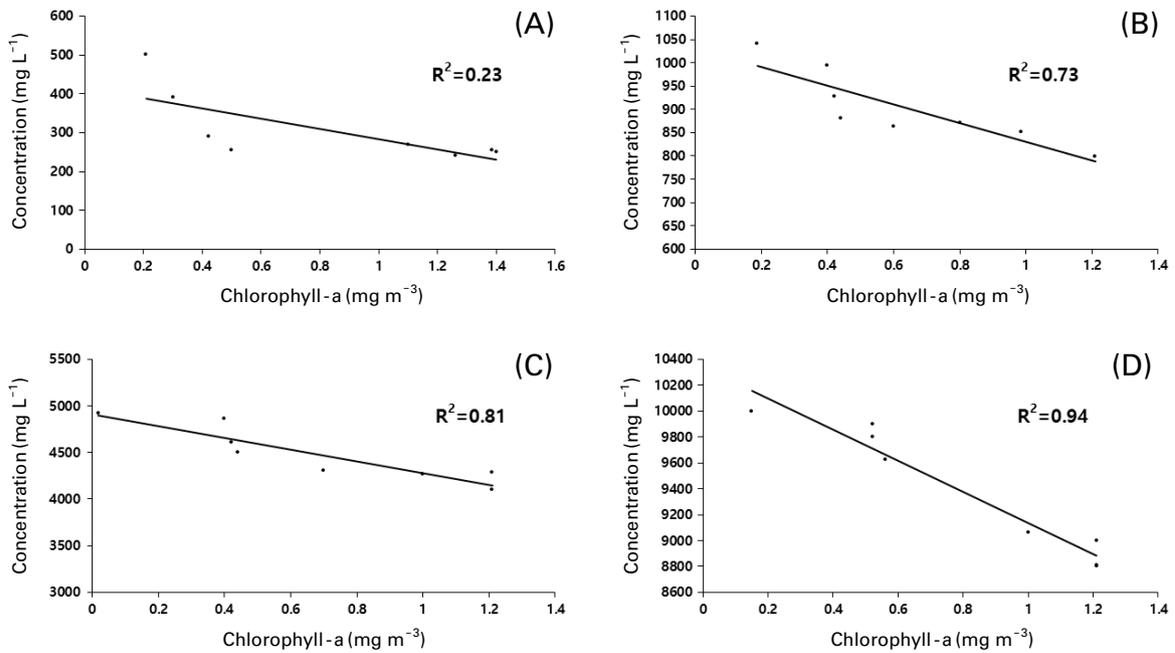


Fig. 9. Correlation between the concentration of T-P and the growth of *Ankistrodesmus bibrainus* in synthetic wastewater containing single P at various concentrations: (A) 500 mg L⁻¹, (B) 1,000 mg L⁻¹, (C) 5,000 mg L⁻¹, and (D) 10,000 mg L⁻¹.

지 못했다(Fig. 6). Engl and Kunz (1995)의 연구결과에 따르면, 중금속 흡착을 할 때 Cu와 Zn은 대부분 동일한 작용

기에 경쟁을 하고 있으며, Zn은 Cu와 비교하여 안정성 상수가 작기 때문에 결합 부위에 적게 흡착된다고 하였다.

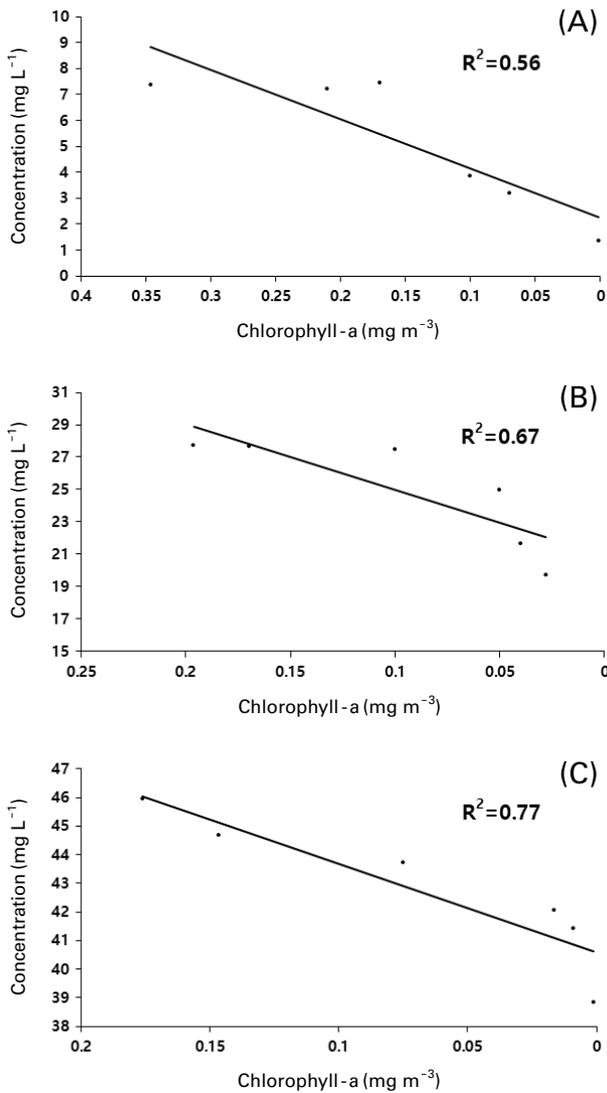


Fig. 10. Correlation between the concentration of Cu and the growth of *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single Cu at various concentrations: (A) 10 mg L⁻¹, (B) 30 mg L⁻¹, and (C) 50 mg L⁻¹.

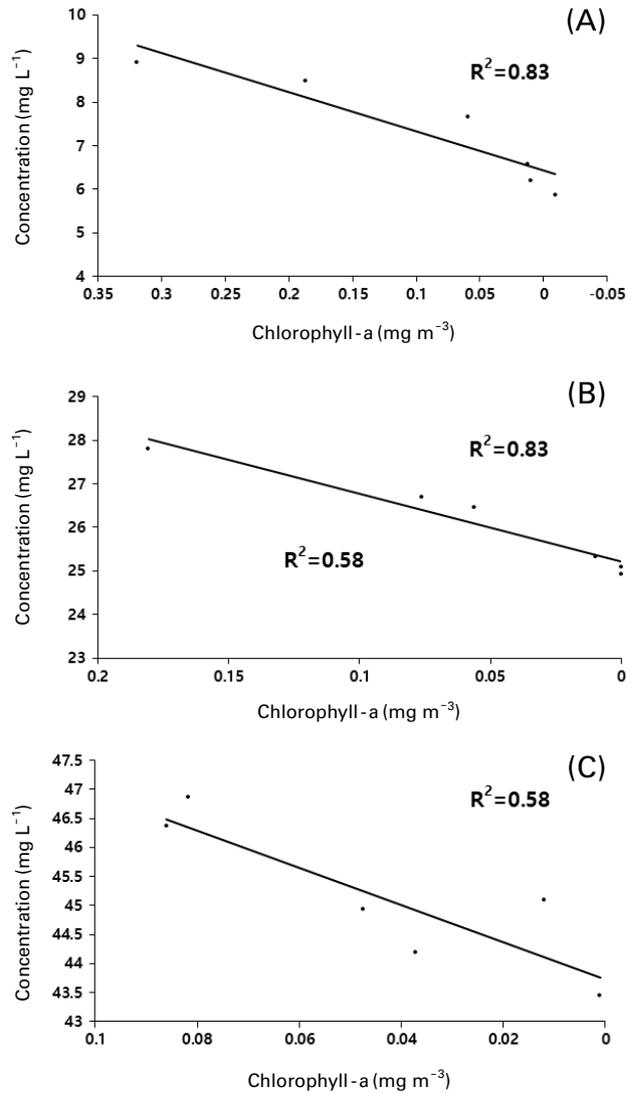


Fig. 11. Correlation between the concentration of Zn and the growth of *Ankistrodesmus bibraianus* in synthetic wastewater containing single Zn at various concentrations: (A) 100 mg L⁻¹, (B) 30 mg L⁻¹, and (C) 50 mg L⁻¹.

따라서, 본 연구결과에서도 복합 합성 폐수에서도 Cu가 Zn에 비해 높은 결합률로 작용기에 먼저 결합되어 단일 처리구와 비유의한 차이를 보인 것으로 사료된다.

Cu과 Zn의 단일 처리구에서 농도 변화와 *A. bibraianus*의 성장을 상관분석하였다(Figs. 10, 11). 본 연구결과 N과 P의 농도 변화와 *A. bibraianus*의 성장은 양의 상관관계를 보였다. 미세조류는 이온 교환, 물리적 흡착, 화학 흡착 등에 의하여 중금속을 세포 표면에 축적하며, 중금속의 축적은 수동적 흡수(passive uptake)와 능동적 흡수(active uptake)

로 크게 두 가지 과정으로 나눈다(Bates *et al.* 1982). 수동적 흡수는 금속 이온을 상대적으로 짧은 시간 내에 세포 표면에 흡착하는 것으로 대사 독립적(metabolism-independent) 과정이다. 반면, 능동적 흡수는 신진대사가 관여되는 대사 의존성(metabolism-dependent) 과정으로, 금속 이온이 세포막에서 세포질로 이동되어 축적된다(Mehta and Gaur 2005). 본 연구에서는 활동성이 있는 *A. bibraianus*를 이용하였으므로 수동·능동적 흡수가 모두 이루어졌으며, 성장이 감소하지만 세포 표면과 세포질에 금

속 이온이 흡착 및 축적되어 중금속의 농도가 감소한 것으로 사료된다.

4. 실제 축산 폐수에서 *Ankistrodesmus bibraianus*의 성장 및 제거효율

영양염류(N, P)와 중금속(Cu, Zn) 합성 폐수의 연구결과를 토대로 *A. bibraianus*의 축산 폐수에 현장 적용 가능성을 확인하였으며, 실제 축산 폐수에서 영양염류와 중금속의 제거효율을 평가하고자 하였다. 본 연구결과, *A. bibraianus*의 성장은 실제 축산 폐수에서 합성 폐수보다 Lag phase가 더 길었다(Figs. 2~4). 축산 폐수는 합성 폐수에 비하여 탁도가 높고, 오염물질이 고농도로 존재하기 때문에(Lim *et al.* 2010), 축산 폐수에서 미세조류의 성장이 느린 것으로 사료된다. 또한, 축산 폐수에 *A. bibraianus*를 처리하였을 때, 각 축산 폐수(A, B, C)별로 총 질소는 23.0, 23.0, 23.0%, 총 인은 12.0, 12.1, 11.9%, Cu는 62.9, 21.9, 29.5%, Zn은 15.7, 11.6, 17.3%의 제거효율을 보였다(Fig. 7). 또한, 축산 폐수에서 *A. bibraianus*의 성장 및 영양염류와 중금속 제거효율은 합성 폐수에서의 결과와 유사한 경향을 보였다. 따라서, 본 연구결과에 따르면 *A. bibraianus*는 축산 폐수의 영양염류와 중금속 제거를 위한 폐수 처리에 적용이 가능할 것으로 사료된다. 폐수 처리 시 미세조류는 광합성을 통해 대기 중의 이산화탄소 농도를 낮추고, 하수 내 유기물과 질소, 인 성분을 기질로 사용하여 수질오염물질을 제거하고, 바이오 연료로 이용 가능한 biomass를 생산할 수 있다(Wilkie and Mulbry 2002; Ahn *et al.* 2013). 따라서, 축산 폐수 처리에 미세조류를 이용할 경우 경제성 측면에서 상당한 이점을 가지고 있어, 폐수 처리 분야에서 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

축산 폐수는 고농도의 영양염류와 중금속을 함유하고 있어, 배출될 때 수질을 악화시킨다. 기존 처리 기술과 비교하여 bioremediation은 축산 폐수 처리에 유능하다. 특히, 미세조류는 오염물질 제거에 잠재력을 가지고 있다. 본 연구에서는 *Ankistrodesmus bibraianus*를 이용하여 축산 폐수 내 영양염류(질소(N), 인(P))와 중금속(구리(Cu), 아연(Zn))의 제거 가능성을 평가하고, *A. bibraianus*의 최적 배양조건을 확립하였다. 연구결과, 최적 배양조건은 28°C,

pH 7, 광주기는 14:10 h로 설정되었다. N과 P의 단일 처리구(500, 1,000, 5,000, 10,000 mg L⁻¹)에서 제거효율은 각각 22.9~80.6%와 11.9~50.0%였다. 또한, N과 P의 복합 처리구에서 제거효율은 각각 16.4~58.3%와 7.80~49.8%였다. Cu와 Zn의 단일 처리구(10, 30, 50 mg L⁻¹)에서 제거효율은 각각 15.5~81.5%와 6.28~34.3%였다. 유사하게, Cu와 Zn의 복합 처리구에서 제거효율은 각각 16.7~74.5%와 5.58~27.5%였다. 또한 영양염류(N 및 P)와 중금속(Cu 및 Zn)의 성장 및 제거효율을 축산 폐수에 적용할 수 있음을 나타냈다. 본 연구의 결과에 따르면 *A. bibraianus*는 축산 폐수 내 영양염류와 중금속 제거에 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2018학년도 충북대학교 연구년제 사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

REFERENCES

- Ahn CY, JY Lee and HM Oh. 2013. Control of microalgal growth and competition by N : P ratio manipulation. Korean J. Environ. Biol. 31:61-68.
- Azov Y and JC Goldman. 1982. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. Appl. Environ. Microbiol. 43:735-739.
- Bailey SE, TJ Olin, RM Bricka and DD Adrian. 1999. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. Water Res. 33:2469-2479.
- Baker MD, CI Mayfield, WE Inniss and PTS Wong. 1983. Toxicity of pH, heavy metals and bisulfite to a freshwater green alga. Chemosphere 12:35-44.
- Bates SS, A Tessier, PG Campbell and J Buffle. 1982. Zinc adsorption and transport by *Chehlamydomonas variabilis* and *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae) grown in semi-continuous culture 1. J. Phycol. 18:521-529.
- Choi HJ and SM Lee. 2011. Effect of temperature, light intensity and pH on the growth rate of *Chlorella vulgaris*. Environ. Eng. Res. 33:511-515.
- Conley DJ, HW Paerl, RW Howarth, DF Boesch, SP Seitzinger, KE Havens, C Lancelot and GE Likens. 2009. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. Science 323:1014-1015.
- Ehrlich HL and CL Brierley. 1990. Microbial Mineral Recovery.

- McGraw-Hill, New York.
- Engl A and B Kunz. 1995. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: effects of nutrient conditions. J. Chem. Technol. Biotechnol. 63:257–261.
- Ilavarasi A, D Mubarakali, R Praveenkumar, E Baldev and N Thajuddin. 2011. Optimization of various growth media to freshwater microalgae for biomass production. Bio-technol. 10:540–545.
- Jung KY, NJ Cho and YG Jeong. 1998. Comparison of liquid composting efficiency using liquid pig manure in different condition. Korean J. Environ. Agric. 17:301–305.
- Kang Z, BH Kim, SY Shin, HM Oh and HS Kim. 2012. Municipal wastewater treatment and microbial diversity analysis of microalgal mini raceway open pond. Korean J. Microbiol. 48:192–199.
- Kim DH, SM Kim, YK Oh and CH Park. 2013. A study on optimal treatment conditions and operational characteristics of nutrient removal using microalgae. J. Korean Soc. Urban Environ. 13:43–50.
- Kim PJ, YB Lee, Y Lee, HB Yun and KD Lee. 2008. Evaluation of livestock manure utilization rates as agricultural purpose in developed OECD countries by using nutrient balances. Korean J. Environ. Agric. 27:337–342.
- Kim SJ, YH Lee and SJ Hwang 2013. Effects of pH and aeration rates on removal of organic matter and nutrients using mixotrophic microalgae. J. Korean Soc. Water Waste. 27:69–76.
- Kim TH. 2013. A development of next-generation advanced wastewater treatment system using microalgae and LED light sources. Ph.D. Dissertation. Kyung Hee University, Seoul, Korea.
- Lananan F, FHM Yunos, NM Nasir, NSA Bakar, SS Lam and A Jusoh. 2016. Optimization of biomass harvesting of microalgae, *Chlorella* sp. utilizing auto-flocculating microalgae, *Ankistrodesmus* sp. as bio-flocculant. Int. Biodeter. Biodegr. 113:391–396.
- Lau PS, NFY Tam and YS Wong. 1995. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. Environ. Pollut. 89:59–66.
- Lee HY. 1999. Livestock wastewater treatment technology using microalgae. J. Bioindustry. 12:36–39.
- Lee JH and JH Park. 2010. Characterization of biomass production and wastewater treatability by high-lipid algal species under municipal wastewater condition. J. Korean Soc. Environ. Eng. 32:333–340.
- Lee JH and JH Park. 2011. Characterization of algal-bacterial ecological interaction and nutrients removal under municipal wastewater condition. J. Korean Soc. Environ. Eng. 33:314–324.
- Lee JY, JH Lee and JH Park. 2011. Molecular ecological characterization of wastewater bacterial communities in response to algal growth. J. Korean Soc. Environ. Eng. 33:847–854.
- Lee YK. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. J. Appl. Phycol. 13:307–315.
- Liang J. 2016. Biosorption characteristics of heavy metals using *Enteromorpha prolifera*. J. Korea Soc. Waste Manage. 33:85–91.
- Lim BR, W Jutidamrongphan and KY Park. 2010. Comparison of models to describe growth of green algae *Chlorella vulgaris* for nutrient removal from piggery wastewater. J. Korean Soc. Eng. 52:19–26.
- Lim BS. 2009. Effect of competitive interference on the biosorption of heavy metals by immobilized algae. MS thesis. Chungbuk National University.
- Mehta SK and JP Gaur. 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. Crit. Rev. Biotechnol. 25:113–152.
- MOE. 2011. Water Pollution Process Test Standards. Ministry of Environment. Sejong, Korea.
- MOE. 2014. Development of a BNR Process and a Bioethanol Production Technology using Microalgae. Ministry of Environment. Sejong, Korea.
- MOE. 2016. Investigation on the Impact of Aquatic Ecosystem on Discharge Water Temperature and Establishment of Management Plan (I). Ministry of Environment. Sejong, Korea.
- Munoz R and B Guieysse. 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. Water Res. 40:2799–2815.
- NIER. 2013. A Pilot Investigation on the Environmental Impact of the Livestock Manure and Organic Fertilizers (II). NIER-RP2013-289. National Institute of Environmental Research. Incheon, Korea.
- Oh EJ, IS Hwang, J Yoo and KY Chung. 2018. Removal of nutrients and heavy metals from swine wastewater using *Chlorella vulgaris*. J. Environ. Sci. Int. 27:1059–1072.
- Park JS, IS Hwang, EJ Oh, J Yoo and KY Chung. 2019. Behavior of nutrients and heavy metals (Cu, Zn) and applicability evaluation from swine wastewater treatment using microalga *Scenedesmus obliquus*. Appl. Chem. Eng. 30:226–232.
- Park KY, BR Lim, KS Lee and SK Lee. 2011. Potential use of microalgae *Scenedesmus acuminatus* for tertiary treatment of animal wastewater. J. Korean Soc. Eng. 53:63–69.
- Richmond A and JU Grobbelaar. 1986. Factors affecting the output rate of *Spirulina platensis* with reference to mass cultivation. Biomass 10:253–264
- Wilkie AC and WW Mulbry. 2002. Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. Bioresour. Technol. 84:81–91.