ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 3, pp. 325-329, June, 2013
http://dx.doi.org/10.11001/jksww.2013.27.3.325

Effects of phosphorus concentration and nitrogen sources on photoautotrophic microalgae *Scenedesmus dimorphus* applied wastewater treatment

인 농도 및 질소원이 광합성 미세조류인 *Scenedesmus dimorphus*를 이용한 하수고도처리에 미치는 영향

Tae-Hyeong Kim · Yong-Beom Cho · Jeong-Eun Park · Sun-Jin Hwang*
김태형 · 조용범 · 박정은 · 황선진*

Department of Environmental Science and Engineering, Center for Environmental Studies,
Kyung Hee University, Seochon-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-701, Republic of Korea

Abstract : A result of estimating the effects of initial phosphorus concentration and nitrogen sources on removal of nitrogen and phosphorus in wastewater treatment using *Scenedesmus dimorphus* shows that there was no difference in microalgae growth amount and nitrogen removal amount by phosphorus concentration(5 ~ 60 mg/L). On the other hand, as initial phosphorus concentration increased, phosphorus removal amount was increased by luxury uptake of microalgae. *Scenedesmus dimorphus* preferred to ammonia when ammonia(40 mg/L) and nitrate(40 mg/L) are simultaneously presented and nitrogen removal rate of ammonia was high at approximately 20 mg/L/day.

Key words : Microalgae, *Scenedesmus dimorphus*, Wastewater treatment, Nitrogen, Phosphorus
주제어 : 미세조류, *Scenedesmus dimorphus*, 하수처리, 질소, 인

1. 서 론

Microalgae는 제약분야, 염료생산, 단백질 생산 등에 이용되고 있으며, 최근에는 Bio-fuel 생산, wastewater treatment 등에 적용하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Wang and Lan, 2011; Brennan and Owende, 2010; Spolaore et al., 2006)

현재 일반적인 하 · 폐수처리 시스템은 호기성 미생물이 하 · 폐수 내의 유기물 제거에 필요한 산소를 폭기를 통해 공급하고 있으며, BOD 1 kg 제거에 필요한 공기를 공급하기 위해서는 대략 1 kwh의 전기가 요구되며(Oswald, 2003), 질소 및 인 제거를 위해 NH_3를 NO_3^-로 산화시키는 질산화 과정과 NO_3^-를 N_2로 환원시키는 탈질과정, 인 제거를 위한 호기, 혐기과정이 필요하므로 공정이 복잡하다.

반면 미세조류를 이용한 하폐수처리기술은 기존 하 · 폐수처리기술 보다 다양한 이점을 가지고 있다. 일반적인 하폐수처리 시스템과 달리 한 반응조에서 유기물, 질소, 인의 동시 제거가 가능하며, 질소, 인 등 영양물질 제거에 높은 효율을 기대할 수 있다(Aslan and Kapdan, 2006; Perez-Garcia et al, 2011; Sancho et al., 1999; Shi et al., 2007). 그리고 미세조류가 광합성을 하는 과정에서 발생하는 산소가 호기성 미생물 성장에 필요한 산소원이 되므로, 산소공급을 위한 폭기 비용을 낮출 수 있다.

• Received 23 April 2012, revised 31 May 2013, accepted 3 June 2013.
* Corresponding author: Tel : +82-31-201-2497 Fax : +82-31-203-4589 E-mail : sjhwang@khu.ac.kr

미세조류는 아미노산, 핵산 엽록소 등의 유기화합물을 합성하기 위해 질소가 필요하며(Graham et al., 2009), 이용되는 질소의 형태는 NH_4^+, NO_3^-, NO_2^-, 유기질소 형태로 대부분의 질소형태를 질소원으로 이용 가능하다(Kaplan et al., 1986; Palenik and Henson 1997; Tuchman 1996).

인은 질소와 더불어 미세조류가 성장하는데 필수적인 원소이며, 미세조류 내에서 energy transfer, DNA, Nucleic acids 등이 합성에 이용된다. 그리고 orthophosphate(PO_4^{2-}) 등의 형태로 흡수되며 내부 및 외부의 인 농도는 미세조류의 lipid, carbohydrate 구성에도 영향을 준다(Borowitzka, 1998).

따라서 본 연구에서는 질소원 종류 및 인 농도가 미세조류 성장 및 질소, 인 제거에 미치는 영향을 평가하여, *Scenedesmus dimorphous* 의 질소 및 인 제거능을 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1 미세조류 분양 및 배양

본 연구에 사용한 *Scenedesmus sp.*는 KORID (Korea Ocean Research & Development Institute)로부터 분양 받았으며, $NaNO_3$ 250 mg/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 75 mg/L, NaCl 25 mg/L, K_2HPO_4 75 mg/L, KH_2PO_4 175 mg/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 25 mg/L, H_3BO_3 114 mg/L, Trace elements solution ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 8.82 mg/L, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.44 mg/L, MoO_3 0.71 mg/L, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1.57 mg/L, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 0.49 mg/L) 1 mL, EDTA stock($EDTANa_2$ 50 mg/L, KOH 31 mg/L) 1 mL, Fe solution($FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 4.98 mg/L, H_2SO_4 1 mL) 1 mL로 제조된 BBM(Bold's Basal Medium) 배지와 250 mL cell culture flask를 이용하여 온도 25 ℃±1, PPFD(Photosynthetic photon flux density) 100 μmol/m²/sec인 조건에서 *Scenedesmus sp.*를 배양하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 인 농도 영향

인 농도가 미세조류 성장 및 질소, 인 제거에 미치는 영향을 평가하기 위해, BBM 배지 내의 질소농도를 40 mg NO_3-N/L, 인 농도를 5 ~ 60 mg/L로 조정하였으며, 1 L 삼각플라스크에 BBM 배지와 미리 배양한 *Scenedesmus dimorphus* 를 9:1로 혼합하여 working volume이 600 mL가 되게 하였다. 초기 pH는 8이 되도록 조정하였으며, 하루에 한번씩 1N NaOH를 이용하여 pH를 8로 조절해 주었다. 광원은 LED를 이용하여 Red light와 Blue light를 7:3으로 혼합하여 사용하였으며, 온도 25 ℃±1인 조건에서 batch test를 7일간 진행하였다.

Table 1. Experimental conditions for assessing initial phosphorus concentration effect

Items	Conditions
Microalgae	*Scenedesmus dimorphus*
Microalgae concentration	0.3 OD
Initial phosphorus concentration	5 ~ 60 mg-P/L
Initial pH	8
Aeration rate	1 vvm
Light intensity	400 μmol/m²/sec
Red light : Blue light mixing ratio	7 : 3
Light frequency	2500 Hz
Light/dark cycles	16 : 8

2.2.2 질소원 영향

미세조류의 질소원 이용패턴을 알아보기 위해, nitrate($NaNO_3$)와 ammonia(NH_4Cl)를 각각 40 mg-N/L의 농도로 주입하여 총 질소 농도가 80 mg-N/L가 되도록 하였으며, 다른 운전조건은 실험 2.2.1과 동일한 조건으로 설정하여 batch test를 7일간 진행하였다.

2.3. 분석방법

미세조류의 성장량은 Standard method(200

ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 3, pp. 325-329, June, 2013

5)에 명시된 SS 측정방법과 OD 측정를 측정하여 평가하였으며, OD(Optical Density) 측정은 Spectrophotometer(X-ma 2000, Human Co., Korea)를 이용하여 660 nm에서의 흡광도를 측정하였다. T-N, T-P 분석은 수질자동분석기인 Auto Analyzer(AA3, BLTE Co., KOREA)를 사용하였으며, NO_3-N, NH_3-N, PO_4-P 분석은 Water Analyzer(HS69 3100, Humas, Korea)를 이용하여 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 인농도가 미세조류 성장 및 질소, 인 제거에 미치는 영향

초기 인 농도를 달리하여 실험을 진행한 결과, 미세조류 성장량은 약 900 ~ 1000 mg/L로 인 농도에 따른 성장량 차이는 없었으며, 질소 제거율도 약 11 ~ 12 mg/L/day로 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

초기 인 농도 5 mg/L의 경우 운전 2일 만에 대부분의 인이 소비되었으며, 농도 15 mg/L의 이상에서의 제거량 차이는 크지 않았다. 그러나 운전 3일 시점에서는 인 농도가 높을수록 제거되는 인의 양도 많은 것으로 나타났다(Fig. 2).

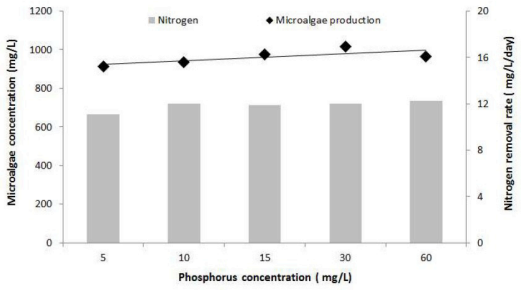

Fig 1. Effects of initial phosphorus concentrations on microalgae production and nitrogen removal rate

인은 일반적으로 미세조류 생체 내 1 % (dry weight) 정도를 차지하고 있으며(Goldman 1980), 충분한 양의 인이 존재할 경우 성장에 필요한 양 보다 많은 양의 인을 섭취하여 저장하고 저장된 인은 외부의 인이 고갈되었을 때 성장에 재사용된다(Kuhl, 1974, John and Flynn, 2000). 그리고 이러한 현상을 "Luxury uptake" 라고 부른다(Eixler et al., 2006). *Scenedesmu sp.*의 경우도 luxury uptake가 가능한 것으로 보고되고 있다(Azad and Borchardt, 1969; Keeana and Auer, 1974).

과잉 섭취된 인의 저장 형태는 polyphosphate 형태이며, polyphosphate는 일반적으로 acid-soluble polyphosphate(ASP), acid-insoluble polyphosphate (AISP)로 구분되며, 저장 된 인의 형태는 AISP 형태이다.(Powell et al. 2009).

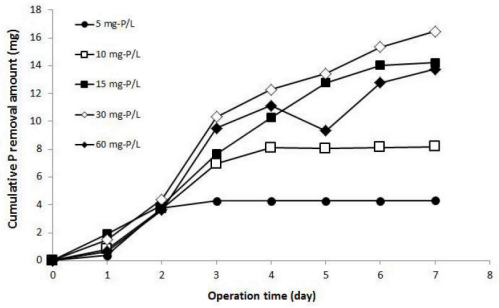

Fig. 2. Phosphorus removal amounts under different initial phosphorus concentration

Powell et al.(2009) 연구에 의하면 초기 인 농도 5 mg/L에서는 AISP의 축적은 없었으며, ASP는 초기에 증가한 후 용액 내 인이 감소함에 따라 감소하였다. 반면초기 인 농도 30 mg/L에서는 AISP가 미세조류 내 축적 되었으며, ASP는 초기에 증가하였다가 감소한 후 일정한 농도를 유지하였다. 이때 주입된 인은 일정량 소비된 후 더 이상 소비되지 않는 것으로 나타났다.

따라서 미세조류 성장량 및 질소 제거속도가 초기 인 농도에 상관없이 비슷한 것으로 보아 5 mg/L 농도의 인만 존재하더라도 미세조류가 성장하는데 문제가 되지 않는 것으로 판단되며, 초기 인 농도 15 mg/L 이상에서는 미세조류의 luxury uptake에 의해 미세조류 생체 내에 저장

됨으로써 인 제거량이 많았던 것으로 판단된다.

3.2 질소원에 따른 질소제거 패턴

Ammonia와 nitrate가 동시에 존재할 때 미세조류의 질소원 소비패턴을 분석하기 위해 실험을 진행한 결과, ammonia가 먼저 소비된 다음 nitrate가 소비되어, 미세조류는 질소원으로 nitrate 보다 ammonia를 더 선호하는 것으로 나타타났으며, ammonia의 질소제거율은 약 20 mg/L/day, nitrate의 질소제거율은 약 12.6 mg/L/day로 암모니아의 제거속도가 빠른 것으로 도출되었다.

Ammonia와 nitrate는 미세조류가 이용하는 질소형태이나, nitrate는 아미노산과 다른 유기 화합물로 합성되기 전에 질산환원효소(nitrate reductase) 및 아질산환원효소(nitrite reductase)에 의해서 NH_4^+로 전환되며, 이러한 환원과정에서 에너지가 소요된다(Philip Sze, 1998; Graham et al, 2009). 그리고 ammonia가 흡수되는 과정에서 질산환원효소의 활성이 억제되므로 ammonia와 nitrate 보다 먼저 소비한 것으로 판단된다(Ruiz et al., 2011).

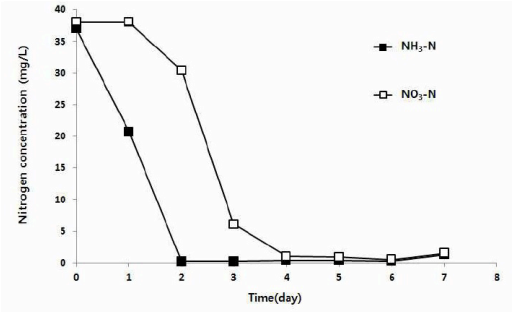

Fig. 3. Nitrogen consumption pattern of *Scenedesmus sp.* under mixed substrates of nitrate and ammonia

4. 결론

- 일반적으로 하폐수의 유입수내 인 농도는 4 ~ 5 mg/L 이므로, 미세조류를 하폐수처리에 적용할 경우 미세조류 성장, 질소 및 인 제거가 가능할 것으로 판단되었다. 하지만 본 연구결과에 따르면 미세조류의 luxury uptake 현상에 의한 인 제거를 기대하기는 어렵다.
- 미세조류의 경우 질산성 질소 보다 암모니아성 질소를 질소원으로 선호하였으며, 암모니아의 제거속도도 빠른 것으로 나타났다. 따라서 암모니아가 주요 질소원인 하폐수에 미세조류를 적용할 경우, 질산화 과정 없이도 질소제거가 가능할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업지원을 받아 수행된 것임.(2011-0023132)

참고문헌

APHA-AWA-WEF, 2005.Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington DC.

Aslan, S., Kapdan, I.K.,(2006) "Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae" Ecological Engineering, Vol. 28, pp. 64-70.

Azad, H. S., & Borchardt, J. A. (1969) "A method for prediction the effects of light intensity on algal growth and phosphorus assimilation. Journal of Water Pollution Control Federation, Vol. 41(11), pp 392-404

Borowitzka, M.A. (1998) "Limits to growth, in Wastewater Treatment with algae, Y.-S. Wong and N.F.Y. Tam, Editors. Springer Verlag. pp. 203-226

Brennan, L., Owende, P. (2010) "Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, prodcessing, and extraction of biofuels and co-products" Renewable and Sustainable Energy Reviews, Vol. 14, pp. 557-577

ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 3, pp. 325-329, June, 2013

Eixler, S., Karsten, U., & Seling, U. (2006). "Phosphorus storage in Chlorella vulgaris(Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cells and its dependence on phosphorus supply" Phycologia, Vol. 45, pp. 53-60

Goldman, J. C.(1980) "Physiological aspects in algal mass cultures. In G Shelef & C. J. Soeder(Eds.), Algae biomass production and use. Amsterdam:Elsevier

Graham , L. E. , J. M. Graham , and L. W. Wilcox (2009) "Algae, 2nd ed."

Benjamin Cummings, San Francisco, California, USA.

Eurgain H. John, Kevin J. Flynn (2000) "KevinModelling phosphate transport and assimilation in microalgae; how much complexity is warranted" Ecological Modelling, Vol. 125, pp. 145-157

Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. & Aaronson, A. (1986) "Algal Nutrition. In : Handbook of Microalgal Mass Culture(ed. A. Richmond)" pp. 147-198, CRC Press, Boca Raton.

Keenan, J. D., & Auer, M. T. (1974) "The influence of phosphorus luxury uptake on algal bioassays" Journal Water Pllution Control Federation, Vol. 46(3), pp. 532-542

Kuhl, A. (1974) "Phosphorus. In W. D. P. Stewart(Ed.)" Algal physiology and biochemistry. Oxford : Blackwell Scientific. pp. 636-654

Oswald, W. J., 2003. My sixty years in applied algology. Journal of Applied Phycology. 15, 99-106

Palenik, B., and S. E. Henson (1997) "The use of amides and other organic nitrogen sources by the phytoplankton Emiliania huxleyi" Limnology and Oceanography, Vol 42, pp. 1544-1511

Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de-Bashan, L. E., Bashan, Y., (2011) Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. Water Research. 45, 11-36

Philip Sze (1998) " A Biology of the Algae third edition"

Powell, N., Shilton, A., Chisti, Y., Pratt, S. (2009) " Towards a luxury uptake process via microalgae - Defining the polyphosphate dynamics" Water Research, Vol. 43, pp. 4207-4213

Ruiz, J., Alvarez, P., Arbib, Z., Garrido, C., Barragan, J., Perales, J. A. (2011) "Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic by Chlorella vulgaris" International Journal of Phytoremediation. 13, 884-896

Sancho, M.M., Castillo, J.M.J., Yousfi, F.E., 1999. Photoautotrophic consumption of phosphorus by Scenedesmus obliquus in a continuous culture. Influence of light intensity. Process Biochemistry 34, 811-818.

Shi, J., Podola, B., Melkonian, M., (2007) Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. Journal of Applied Phycology 19, 417-423.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101, 87-96.

Tuchman, N. C. (1996) "The role of heterotrophy in algae. In : Stevenson, R. J., M. L. Bothwell, and R. L. Lowe(eds.)", Algal Ecology : Freshwater Benthic Ecosystems, Academic Press, New York. pp. 299-319

Wang, B., Lan, C.Q., 2011. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga Neochloris oleoabundans in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. Bioresource Technology 102, 5639-5644.