

미세조류를 이용한 양돈폐수 고도처리에서 슬러지 및 이산화탄소의 첨가의 영향

Effects of sludge and CO₂ addition on advanced treatment of swine wastewater by using microalgae

임병란^{1*}・박기영²・이기세³・이수구¹

Lim, Byung-Ran^{1*} · Park, Ki Young² · Lee, Kisay³ · Lee, SooKoo¹

1 서울과학기술대학교 환경공학과, 2 건국대학교 사회환경시스템공학과, 3 명지대학교 환경생명공학과

(2011년 4월 7일 접수 ; 2011년 6월 1일 수정 ; 2011년 6월 3일 채택)

Abstract -

The potential of algal-bacterial culture was investigated for advanced treatment of animal wastewater. Fed-batch experiments were carried out to examine treatability of nitrogen and phosphorus in different microbial consortium: *Chlorella vulgaris*, activated sludge, three microalgae strains (*Scenedesmus, Microcystis, Chlorella*) and *Bacillus* consortium, and three microalgae strains and sludge consortium. Single culture of *C. vugaris* showed the better efficiency for nitrogen removal but was not good at organic matter and phosphorus removal compared with activated sludge. Three microalgae and *Bacillus* consortium was best culture among the culture and consortium for pollutants removal tested in this experiment. Effect of CO₂ addition was studied by using three microalgae and *Bacillus* consortium. CO₂ addition enhanced T-P removal efficiency up to 60%. However, removal efficiencies of T-N and ammonia nitrogen reduced on the contrary.

Key words: Algae-bacteria culture, CO2 addition; Fed-batch culture; Swine wastewater, Tertiary treatment

주제어: 반연속식 배양, 삼차처리, 양돈폐수, 이산화탄소 주입, 조류-세균 배양

1. 서 론

고도성장으로 생활수준이 향상되면서 환경오염 및 수변 환경조성에 많은 관심을 기울이고 있다. 축산폐수는 고농도 의 유기물로 이루어져 있어 하천과 호수 등의 수질환경의 보전에 영향이 오염원이다. 특히 축산폐수는 다량의 유기 질, 질소, 인 성분을 포함하고 있어 하천 부영양화에 심각한 영향을 초래한다(농림부 및 환경부, 2004).

축산폐수의 처리를 위해 일반적으로 물리 · 화학적인 1차 처리 공정과 유기물을 처리하는 2차 처리 공정이 이용되고 있다. 1차 처리는 스크린 분리, 침강, 응집침전 등 단위 공정으로 이루어지며, 2차 처리는 미생물을 이용하여 제거하는 생물학적 처리 방법을 일컫는다. 그러나 축산폐수는 유기질, 질소, 인 성분의 함유량이 매우 높아 1차 처리와 2차처리 거쳐도 만족할만한 방류 수질을 얻기 어려워 처리효율을 높이기 위한 부가적 고도처리 공정이 필요하다. 고도처리 공정의 하나로 태양광을 에너지원으로 하여 영양염류인질소, 인을 처리할 수 있는 조류를 이용한 기술이 시도되고 있다(최정우 등, 2000; Kumar et al., 2010).

미세조류는 지구상에서 가장 오랜 역사를 가지고 있는 생

물이지만 다른 미생물에 비해 구조와 생활환경이 복잡한 때 문인지 그다지 주목을 끌지 못하였다. 최근 들어 미세조류 의 잠재력이 부각되어 식량을 비롯하여 화장품, 의약품, 사 료 그리고 환경 분야 등의 다양하게 활용하려는 연구가 이 루어졌다(Wilkie and Mulbry, 2002; 박기영등, 2011). 또 한 미세조류는 이산화탄소와 같은 온난화가스의 삭감에 기 여할 수 있다. 이산화탄소 농도의 증가로 지구 온난화가 환 경문제로 대두된 것은 이미 오래 전이며 이산화탄소의 제거 에 많은 노력을 기울이고 있다. 따라서 조류처리 시스템은 대기의 이산화탄소 제거와 폐수 내의 영양염류를 제거하는 두 가지 효과를 얻는 장점이 있을 것이라 생각된다. 한편, 매장량의 한계와 연소시 발생하는 이산화탄소의 문제로 인 하여 화석연료를 재생가능한 에너지로 대체하려는 연구가 활발한데 페수처리후 회수되는 미세조류도 바이오에너지 원으로 중요한 위치를 차지하고 있다(Travieso et al., 2006). 또한, 대부분의 폐수 내 존재하는 미생물들은 질소 원을 암모니아성질소 형태를 필요로 하는 반면 미세 조류들 은 암모니아성 질소 외에 질산염이나 질소 자체를 이용할 수 있는 능력이 있어 폐수 내 존재하는 다양한 형태의 질소 들의 이용이 가능하다(이현용, 1999). 그러나 조류처리법 은 고농도나 독성/난분해성의 유기물이 포함되어 종속영양 상태에 있는 경우 세균이나 균류에 비하여 영향을 받기 쉽 다. 이러한 경우 조류-세균의 공생관계가 처리에 상당히 도움을 주는 것으로 알려져 있다(Borde et al., 2003). 하

Table 1 Culture media for microalgae growth

Element	Medium Concentration
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	15mg
KNO₃	10mg
B-Na ₂ glycerophoaphate	5mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4mg
Vitamin B12	0.01µg
Biotin	0.01µg
Thiamine HCI	1µg
PVI metals	0.3mg
Tris(hydroxymethyl)ami -nomathane	50mg
Distilled water	99.7mL
PVI metals	
FeCl ₃ .6H ₂ O	19.6mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	3.6mg
$ZnSO_4.7H_2O$	2.2mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.4mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25mg
Na ₂ EDTA:2H ₂ O	100mg
Distilled water	100mL

폐수처리를 위한 공학시스템에서 조류-세균 공동 배양의 개념은 최근 몇 년 동안 상당히 정립되었으며 (de-Bashan et al., 2002; Medina and Neis, 2007; Bordel et al., 2009) 조류가 산소를 생산하고 호기성 세균이 생분해성 유기물을 분해하면서 이산화탄소를 배출하는 상호 공생관계로 매우 효과적이라고 한다(Guieysse et al., 2006).

그러나 이러한 조류-세균의 적절한 조합에 관한 연구는 축산폐수처리에서는 찾아보기 어렵다. 본 연구에서는 축산폐수의 영양염류 (N, P) 및 유기물 제거를 도모하기 위해 3종의 미세조류에 *Bacillus* 및 하수슬러지의 혼합배양을 비교하였고 조류 컨소시움(consortium)에 CO₂를 주입 했을 때와 공기를 주입하였을 때의 효과를 고찰하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험조류 및 배양 방법

실험에 사용된 미세 조류는 국립환경연구원 환경미생물 종균관리센터(NIER)와 한국해양미세조류은행에서 분양받은 Chlorella vugaris (NIER-10003), Scenedesmus acyminatus(NIER-10093), Microcystis aeruginosa 3 종을 사용하였으며 영양염류 및 유기물 제거 특성의 비교를 위해 Bacillus 및 하수슬러지를 첨가하였다. 3종의 조류를 배양하기 위한 조류 성장의 배지 조성은 **Table 1**과 같다. 또한 Bacillus의 배지는 Nutrient Broth 배지를 사용하였다. 만들어진 배지는 250L 삼각플라스크를 이용하였고, 고 압증기멸균기에서 120℃, 15분 동안 멸균하였으며 계대배양은 1주마다 수행하였다. 배양은 진탕배양기 (shaking incubator)를 이용하여 온도는 30℃, 교반속도는 150rpm, 광은 삼파장 램프의 조건에서 배양하였다.

2.2 축산폐수의 선정

실험에 사용된 폐수는 양돈폐수로 혐기성 2단 소화조를 거쳐 나온 혐기성소화액을 4°C 저온실에 보관하여 사용하였다. 본 연구에 사용된 양돈폐수 혐기성소화액의 수질특성은 **Table 2**와 같다.

Table 2 Characterization of swine wastewater

Items	Concentration		
pH (-)	9.0		
NO_3 - $N(mg/L)$	98.2		
NH_4 - $N(mg/L)$	4,203.8		
T-N(mg/L)	6,571.2		
T-P(mg/L)	754.5		
CODcr(mg/L)	8,899.5		

2.3 실험방법

조류 성장 배지에서 4일 동안 배양한 3종의 조류 및 Bacillus를 시험관(test tube)에 옮기고 3000rpm에서 20 분간 원심분리하여 여액은 제거하였다. 조류 배양 실험을 위해 4L 부피의 광생물반응기(photobioreactor)를 제작 하여 1L로 운전하였다(Fig. 1). 광생물반응기 개발에 관한 연구는 1980년대부터 활발하게 진행되었으며, 이러한 연 구들은 미세조류의 배양을 통해 이산화탄소 고정화 향상에 효율적으로 대응하기 위하여 시도되었다. 광생물반응기는 옥외대량 배양장치에 비해 초기 투자비와 관리 유지비가 상 대적으로 높은 단점을 가지고 있으나, 높은 균체 성장 속도 와 편리한 운전조건 조절, 그리고 스케일-업이 용이한 장 점을 가지고 있다. 우리나라의 경우 태양광이 일정하지 않 고, 온도 및 강우량의 일 편차 및 연 편차가 큰 지역에서는 미세조류의 고농도 배양을 위해서는 밀폐형 배양장치인 광 생물반응기에 의해 수행되어야 경쟁력이 있다. 이러한 광생 물반응기에 40배 희석한 혐기성 소화액을 반응기에 넣고, 원심분리 후 남아 있던 3종의 조류 및 Bacillus를 넣어 주었 다. 이 반응기에 공기 1L/min을 주입했을 때와 CO2 5%를 주입 했을 때의 변화를 알아보았다. 반응기 내의 온도는 28 ~30℃를 유지하였다.

또한, 하수슬러지, 세균과 미세조류를 양돈폐수 혐기성소화액에서 혼합배양하였다. 하수슬러지와 증류수를 혼합한단일균은 하수슬러지 1mL와 40배 희석한 양돈폐수100mL를 혼합하여 총 유효부피를 200mL하였다. 하수슬러지와 조류를 혼합한 혼합균은 하수슬러지 1mL와 Scenedesmus, Microcystis, Chlorella을 혼합한 조류50mL와 40배 희석한 양돈폐수 혐기성소화액 100mL를 혼합하여 총 volume을 200mL하였다. 운전조건은 30℃에서 150rpm을 유지하면서 삼파장 램프에서 배양하였다. 단



Fig. 1 Photobioreactor.

일균과 혼합균의 결과를 비교 분석하였다.

2.5 분석방법

미세 조류의 성장을 알아보기 위해 OPTIZEN 3220UV (한국 메카시스)를 이용하여 663nm, 645nm, 630nm, 750nm에 Chlorophyll-a를 측정하였다. 반응이 진행됨에 따른 시료내의 pH 변화를 알아보기 위해 pH 측정기 (pH-510)를 이용하여 pH를 측정하였으며, 시료를 0.45 μ m 멤브레인 여지(Filter)로 여과하여 공정시험방법에 따라 T-N, T-P, CODcr을 측정하였으며 NH_4-N 는 Standard Methods(APHA, 1998) 방법에 따라 측정하였다. 또한, NO_3-N 는 DR-4000(HACH)을 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 미세조류 및 세균의 컨소시움에 따른 N, P 제거

하수슬러지만 주입했을 때와 하수슬러지와 조류를 혼합하여 배양했을 때의 결과를 비교 분석하였다. 바이오매스의 증가를 나타내는 부유고형물을 Fig. 2에 나타내었다. 하수슬러지만의 성장이 가장 좋지 않았으며 나머지 미세조류 컨소시움 및 미세조류와 박테리아의 혼합배양에서는 성장의차이가 크게 나지 않았다.

Fig. 3은 미세조류 컨소시움 및 세균-미세조류의 혼합배양에서의 양돈폐수처리 효과를 나타낸 것이다. 양돈폐수(혐기성소화액)를 처리하기 위하여 미세조류 *C. vulgaris* 단일종을 투여하였을 때, 유기물 (COD)은 약 5-6%, T-P 30%내외, T-N 40%내외, 암모니아성질소 70%내외의 제거율 제거되었다. T-N의 제거율과 NH4-N의 제거율의 차이가 매우 큰 것을 알 수 있다. 이렇게 이러한 차이가 발생하는 이유는 T-N 중 상당부분 유기성 질소로 존하여 제거되지 못하고 있으며 일부분은 NH4-N로 분해되어 제거율이 약 80%정도 된 것이라고 생각된다. 하수슬러지만을 주

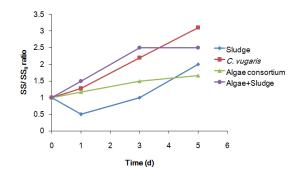


Fig. 2 Comparison of biomass growth in different microalgae consortium.



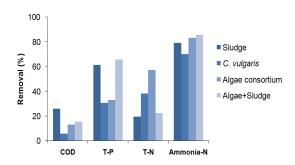


Fig. 3 Comparison of pollutants removal growth in different microalgae consortium.

입했을 때는 COD제거율이 30%까지 증가하는데 약간 하수 슬러지가 유기물을 제거하는 기능을 했기 때문이라고 판단 된다. T-N은 20%가 제거되었고 NH₄-N는 80%가 제거 되었으나 T-P는 60%내외로 높은 제거율을 보였다. 미세조류의 인, 질소 제거 및 유기물 제거를 향상시키기 위 하여 3종류의 미세조류를 공동으로 배양하고 세균단일종 Bacillus 및 세균복합종인 하수슬러지를 첨가하였다. COD 제거는 조류단일 종일 때보다는 증가하였으나 제거율의 증 가가 10%내외로 미미하였다. T-P제거율의 경우 C. vulgaris 및 미세조류 컨소시움이 비슷하였고 미세조류와 슬러지 혼합배양은 하수슬러지와 비슷한 정도를 보였다. T-N의 제거율의 경우 미세조류 컨소시움의 경우가 하수 슬러지 및 미세조류와 슬러지 혼합배양의 경우보다 크게 증 가하였으며 미세조류 단일종을 사용하였을 때보다도 확연 히 증가하였다. 암모니아성 질소의 경우 거의 모든 경우 80% 내외의 높은 게거율을 보였으며 배양 조건에 따른 차 이는 크지 않았다. T-P는 13%의 제거율을 보였다.

3.2 미세조류 컨소시움에서 CO_2 5% 주입에 따른 N, P 제거특성

양돈폐수의 혐기성 처리액을 희석하여 주입하였으며 앞의 실험에서 가능성이 상대적으로 높은 세 종류의 미세조류 혼합 배양조건(algae consortium)에서 CO2를 주입하여 영양염 제거율에 대한 영향을 공기만을 주입한 경우와 비교하였다(Fig. 4). 미세조류의 컨소시움에 공기만을 주입했을 경우에는 6일 경과했을 때 T-N은 106.8mg/L에서 40.4mg/L로 62%의 제거효율을 보였고, NH4-N는 95.5mg/L에서 12.8mg/L으로 87.0%의 제거율을 보였다. 이는 6일 경과했을 때 Chlorophyll-a가 223.1mg/L에서 1063.4mg/L로 증가하여 상당한 양의 조류 바이오매스가 성장하였다. 즉, 이 결과는 조류가 암모니아성 질소를 영양물질로 이용하여 성장하고 있음을 보여준다. 반응이 끝난 9일째의 T-N의 경우 유출수의 농도가 30.5mg/L로

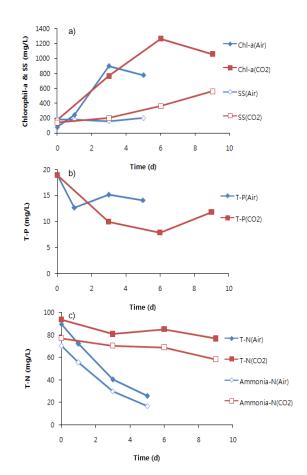


Fig. 4 Effects of CO₂ addition in three microalgae consortium

71.5%의 제거율을 보였다. 이는 공생하는 Bacillus가 유기물을 어느 정도 제거하였거나 혹은 종속영양 조류에 의한섭취로 생각된다. 또한, 유기물은 3일 이후부터 제거율에큰 변화가 없음을 볼 수 있다. 이는 분해 가능한 유기물이 대부분 제거되어 더 이상 제거가 되지 않고 있다고 보여진다.

한편 CO₂ 주입의 경우 공기주입 실험과 동일한 양돈폐수를 사용하였고, 배양기간도 동일하게 9일로 하였으며, 희석 배수는 40배로 동일하게 하였다. 5%의 CO₂를 공급하기 위해 CO₂와 공기펌프에서 나온 공기를 혼합하여 사용하였다. 조류의 성장은 Chlorophyll—a가 6일 경과 했을 때가 최대치를 보였고, SS가 계속하여 증가함을 볼 수 있었다. 이는 조류의 성장이 활발함을 나타내 준다. T—N은 93.5 mg/L에서 76.6 mg/L로 약 18%제거로 만족할 만한 제거효율을 보이지 못했다. 일반적으로 조류는 CO₂ 5% 내외로 주입했을 때 가장 좋은 효율을 보인다. 그러나 본 실험에서는 CO₂ 주입시 공기를 주입했을 때 보다 더 좋은 T—N 제거효율을 보이지 않았다. 이러한 이유는 CO₂를 주입하면서 알칼리도

상하수도학회지, 논문 25권 3호, pp.307-312, 6월, 2011

	Air injection				CO ₂ injection
	Sludge	C. vugaris	Algae consortium	Algae+Sludge	Algae consortium
COD removal (%)	26.1	5.9	13.2	15.4	14.5
T-P removal (%)	61.4	30.6	33.0	65.7	58.1
T-N removal (%)	19.6	38.4	57.3	71.5	18.1
Ammonia-N. romoval (%)	70.1	70.1	83.3	85.6	24.6

Table 3 Effects of consortium and CO₂ injection(5%) on pollutants removal.

가 방해 요소가 되었거나 혹은 다른 방해 요소가 있었을 것 이라 생각된다. T-P의 경우 최대 약 60%제거 효율을 보였 다. 이는 공기 주입 시보다 제거율이 상당히 높으며 공기주 입과 마찬가지로 시간의 경과하면 조류세포의 해체에 따라 T-P가 제거되지 않고 오히려 증가되는 경향은 두 경우가 모두 비슷한 결과를 보였다. CO2 주입시 인이 많이 제거된 이유는 질소보다 인을 선호하는 조류가 있을 가능성을 보여 준다. 유기물의 경우 333.3mg/L에서 3일째 되는 날 290.1mg/L로 약 13%가 제거되었다. 그 후는 변화가 거의 없었다. 이는 공기주입시와 마찬가지로 Bacillus가 유기물 을 제거하는 기능을 했거나 유기 탄소를 탄소원으로 사용하 여 생장하는 일부 종속영양 조류에 의한 결과로 보여진다. NO₃-N의 경우 별다른 변화를 보이지 않고 완충효과에 의 해 pH가 중성으로 유지되었다. NH4-N의 경우 77mg/L에 서 58.1mg/L로 약 24%의 제거율을 보였다. 결과적으로 3 종의 조류를 혼합한 후 여기에 공기 대신에 CO₂를 주입하 였을 때 더 좋은 T-N 제거효율을 나타내었으나, 만족할 만한 T-P 제거효과는 거두지 못하였음을 나타낸다.

3.3 미세조류 컨소시움 및 CO₂ 주입에 대한 토의 미세조류 컨소시움내 미생물의 군집구조를 살펴보기 위 하여 quinone profile법을 이용하였다(Hu et al., 1999). Quinone은 전자전달계물질의 하나로서 호흡쇄의 지용성분 으로 대부분의 미생물에 존재한다. Quinone은 그의 골각형, 이소프렌 측쇄수 및 측쇄의 포화도등의 차이에 의해서, 특유 의 산화환원전위를 나타냄으로 미생물에 있어서 에너지대사 의 차이에 의해서 퀴논분자종도 틀리게 된다. Quinone은 크 게 호기 및 혐기성호흡을 통해 에너지를 획득하는 ubiquinone(UQ)과 menaquinone(MK)으로 나눌 수 있으 며, 광합성을 통해 에너지를 획득하는 plastoquinone (PQ) 과 vitamin-K(VK)1 으로 나눌 수 있다(Collins and Jones, 1981). 본 연구에서는 남조류, 녹조류 등 각각의 대 표적인 균주를 순수 배양하여 퀴논을 분석한 결과, 남조류 (Mycrocyctis, Phormidium)는 VK-1을 우점으로 함유 하고 있었으며, 녹조류(Selenastrum, Scenedesmus, Chlorella)는 PQ-9를 우점으로 함유하는 것으로 나타났 다(임병란 등, 2005). 또한 *Bacillus*에 대하여 퀴논분석을 한 결과 MK-7을 우점으로 함유하는 것으로 나타났다.

배양 기간은 9일로 정하였고 양돈페수를 40배 희석하여 미세조류를 주입한 후, 시간 경과에 따라 비교·분석한 결과 조류 및 슬러지 단일종보다 컨소시움, 조류—세균 형태의 혼합배양이 오염물질의 제거에 효과적이었다. CO₂ 5% 주입 시 T-P의 제거효율이 58.1%로써 제거 효율이 공기주입보다 좋은 것으로 나타났다. 그러나 T-N의 경우 공기주입 시 71.5%의 제거효율을 보였으며 CO₂ 5% 주입 시 18.1%의 낮은 제거효율을 보였다. NH₄-N 및 유기물의 제거효율도 CO₂ 5% 주입했을 때 보다 공기주입했을 때 제거효율이 더 좋게 나타났다. 공기주입과 비교하여 이산화탄소의 주입은 질소 및 인의 제거에서 선호하는 영양소가 달라각기 다른 영향을 미치는 것으로 생각된다.

4. 결 론

본 연구에서는 Scenedesmus, Microcystis, Chlorella 의 세종류의 조류와 Bacillus 및 하수슬러지를 공동으로 배양하여 양돈페수의 질소 및 인 제거효율을 알아보았다. Chlorella vugaris 및 하수슬러지만를 사용하였을 때와 비교하여 미세조류 혼합배양의 경우 질소제거율은 좋으나 유기물 및 인제거율이 하수슬러지를 사용했을 경우보다 좋지않았다. 세 종류의 미세조류 컨소시움과 조류 및 Bacillus의 혼합이 조류 및 슬러지의 혼합보다 양돈페수의 처리에 적합하였다. 또한 처리성이 좋은 미세조류 배양조건에 대하여 CO2를 주입하여 제거효율에 미치는 영향에 대하여 검토하였다. CO2 주입에 따라 COD 제거는 영향이 없었으며 T-P 제거율은 30% 향상되었으나 T-N 및 암모니아성 질소 제거율은 오히려 감소하였다.

사 사

이 논문은 2006년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한 국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2006 -311-D00131)



참고문헌

- 농림부, 환경부, 2004. *가축분뇨 관리·이용대책*. 환경부·농림부 합 동, 경기 과천.
- 박기영, 임병란, 이기세, 이수구 (2011) 축산폐수 고도처리를 위한 미세조류 *Scenedesmus acuminatus*의 이용 가능성. *한국* *공학회논문집, 53(1), pp.63-69.
- 이현용(1999) 미세 조류를 이용한 축산 폐수 처리 기술. **생물산업, 12**(4), pp.36-39.
- 임병란, 안규홍, 송경근, 박유정, 전대영 (2005) 정수 및 하수처리 공정 중 침전지 부착조류 및 미생물 군집구조 해석. **상하수도 확회지, 19**(1), pp.61-67.
- 최정우, 김영기, 류재홍, 이우창, 이원홍, 한정택 (2000) 축산폐수 처리를 위한 광섬유 생물반응기를 이용한 조류 배양 공정 개 발. *한국생물공학회지*, **15**(1), pp.14-21.
- APHA, AWWA, WEF (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edn, Amercian Public Health Association, Washington DC, USA.
- Borde, X., Guieysse, B., Delgado, O., Munoz, R., Hatti-Kaul, R., Nugier-Chauvin, C., Patin, H. and Mattiasson, B. (2003) Synergistic relationships in algal-bacterial microcosms for the treatment of aromatic pollutants. *Bioresource Technol.*, **86**, 293-300.
- Bordel S., Guieysse B., and Munoz R. (2009) A mechanistic model for the reclamation of industrial wastewaters using algal-bacterial photobioreactors. **Environ. Sci. Technol., 43**(9), 3200–3207.
- Collins, M. D. and Jones, D. (1981) Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implications. *Microbiol. Rev.*, 45, 316–354.

- de-Bashan, L.E., Moreno, M., Hernandez, J.P., and Bashan, 353 Y. (2002) Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium Azospirillum brasilense. *Water Res.*, 36(12), 2941–2948.
- Hu, H.-Y., Fujie, K and Urano, K. (1999) Development of a novel solid phase extraction method for the analysis of bacterial quinones in activated sludge with a higher reliability. *J. Biosci. Bioeng.*, 87(3), 378-382
- Kumar, M. S., Z. H. Miao, and S. K. Wyatt (2010) Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium. *Bioresource Technol.*, 101(15), 6012-6018.
- Medina, M., and Neis, U. (2007) Symbiotic algal bacterial wastewater treatment: effect of food to microorganism ratio and hydraulic retention time on the process performance. *Water Sci. Technol.*, 55(11), 165–171.
- Travieso, L., F. Benitez, E. Sanchez, R. Borja, A. Martin, and M. F. Colmenarejo (2006) Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. *Ecol. Eng.*, 28(2), 158–165.
- Wilkie, A. C., and W. W. Mulbry (2002) Recovery of dairy manure nutrients by benthic fresh water algae. *Bioresource Technol.*, **84**(1), 81–91.