

호염기성 미세조류 *Arthrospira platensis*의 폐수처리 적용을 위한 종특이성 평가

이수현^a · 허재희^b · 황선진^{c,*}

경희대학교 일반대학원 환경응용과학과

Species Specificity Evaluation for Wastewater Treatment Application of Alkaliphilic Microalgae *Arthrospira platensis*

Su-Hyeon Lee^a · Jae-Hee Huh^b · Sun-Jin Hwang^{c,*}

Department of Applied Environmental Science, Kyung Hee University
(Received 4 August 2022, Revised 18 October 2022, Accepted 1 November 2022)

Abstract

Since the efficiency of wastewater treatment using microalgae differs depending on the metabolic characteristics of the species, it is important to understand the characteristics of target algae prior to the application in wastewater treatment. In this study, for the application of *Arthrospira platensis* to wastewater treatment, which is a filamentous alkaliphilic cyanobacteria, basic species specificity was identified and the possibility of application to wastewater treatment was investigated. As a result of the species specificity investigation, the specific growth rate between pH 7.0 and 11.0 showed the highest value near pH 9 at 0.25/day. The reason for the relatively low growth(0.08/day) at pH 11 was thought to be the CA(carbonic anhydrase) enzyme that is involved in carbon fixation during photosynthesis has the highest activity at pH 8.0 to 9.0, and at pH 11, CA activity was relatively low. In addition, *A. platensis* showed optimal growth at 400 PPFD(photosynthetic photon flux density) and 30°C, and this means that cyanobacteria such as *A. platensis* have a larger number of PS-I(photosystem I) than that of PS-II(photosystem II). It was speculated that it was because higher light intensity and temperature were required to sufficiently generate electrons to transfer to PS-I. Regarding the applicability of *A. platensis*, it was suggested that if a system using the synergistic effect of co-culture of *A. platensis* and bacteria was developed, a more efficient system would be possible. And different from single cocci, filamentous *A. platensis* expected to have a positive impact on harvesting, which is very important in the latter part of the wastewater treatment process.

Key words : *Arthrospira platensis*, Species specificity, Microalgal wastewater treatment, Alkaliphilic microalgae, CO₂ concentrating mechanism (CCM)

^a 연구원(Researcher), kbg03075@khu.ac.kr, <https://orcid.org/0000-0001-7932-9666>

^b 연구원(Researcher), jaejjang@khu.ac.kr, <https://orcid.org/0000-0001-8306-8155>

^c Corresponding author, 교수(Professor), sjhwang@khu.ac.kr, <https://orcid.org/0000-0003-3865-4811>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. Introduction

2019년 산업폐수의 발생량은 약 4,800,000톤/일이며, 그 중 섬유염색 폐수 약 43,000톤/일, 석유화학폐수 약 700,000톤/일, 금속염폐수 약 130,000톤/일 등 많은 양의 알칼리성 폐수가 발생되고 있다(ME, 2021). 알칼리성 폐수 중 생분해 가능한 폐수로는 유지 제조업 폐수, 젤라틴 및 접착제 제조업 폐수, 석유 정제 및 재생업 폐수 등이 있고, 이러한 폐수들은 주로 활성슬러지법으로 처리된다. 기존의 폐수처리방법인 활성슬러지공법은 BOD, SS 등의 유기물을 90% 이상 제거하지만, 질소, 인 등의 영양염류는 10~30% 밖에 제거하지 못하는 한계를 가진다.

그에 비해 미세조류를 적용한 폐수처리는 기존의 폐수처리방법인 활성슬러지공법을 이용한 처리보다 폐수 내의 질소와 인의 처리효율이 높다는 장점이 있어, 최근 많은 관심을 받고 있다. 그러나 미세조류를 이용한 폐수처리 효율은 폐수의 특성에 따라 상당히 다르다. 예를 들어, *Chlorella vulgaris*는 높은 영양염류 제거능을 보여 폐수처리에 주로 사용되는 종이지만, 적정 pH 조건이 7~8이기 때문에 알칼리성 폐수를 처리하는 데에는 어려움이 있다. 또한, 알칼리성 폐수는 주로 산업폐수이기 때문에, 다양한 유기물, 질소, 인 외에도 중금속을 포함하는 경우가 빈번하다(Shun-Xing et al., 2007). Chen et al. (2016)와 Bajguz (2010)의 연구에 따르면 *C. vulgaris*가 중금속에 의한 독성반응으로 인해, 광계에 영향을 미쳐 광합성과 호흡을 제한하여 성장에 저해를 받는다고 보고된 바, *C. vulgaris*는 중금속을 포함한 폐수를 처리하는 데에 어려움이 있다. 또한, *C. vulgaris*는 단세포 미세조류로 낮은 밀도로 인한 불량한 침강성으로 인해 수확 관점에서 어려움이 있다.

그에 비해 *Arthrospira platensis*는 최적 pH가 알칼리성인 호염기성(alkaliphilic)이기 때문에 알칼리성 폐수를 처리하기에 적합하다고 기대된다. *A. platensis*는 세포 내부의 단백질 함량이 최대 70%로 다른 미세조류 보다 단백질 함량이 높기 때문에 폐수에서 많은 질소를 제거할 수 있으며(Yu et al., 2021), 남조류 중에서 상대적으로 성장률과 영양염류의 제거능이 높다는 장점이 있다(Zhai et al., 2017). 또한, *A. platensis*도 중금속에 의한 저해영향을 받으나, Arunakumara et al. (2007)의 연구에 따르면, *A. platensis*가 상대적으로 높은 농도의 중금속에 대해서도 내성이 있다고 보고된 바 있다. 그리고, 일반적인 구형 미세조류가 불량한 침강특성으로 인해 수확하는데 어려움이 있는 반면, *A. platensis*는 길이가 평균 200 μm에 달하는 사상형이고, 침강성이 좋기 때문에 응집제를 사용하지 않고 표준적인 수준의 여과를 통해 수월하게 수확을 할 수 있다는 장점도 갖는다. 이처럼 미세조류를 적용한 폐수처리 효율은 미세조류의 종류 및 대사특성 등에 따라 다르기 때문에, 폐수처리에 앞서 이러한 미세조류의 특징을 이해하는 것이 중요하다.

이에 본 연구에서는 *A. platensis*의 적정 pH가 알칼리성이라는 사실을 바탕으로 알칼리폐수에 적용하기에 적합하다고 판단된 바, *A. platensis*의 종특이성을 파악하고, 이를 기반으

로 폐수처리 가능성을 판단하고자 하는 목적으로 연구를 진행하였다. 즉, *A. platensis*의 성장에 영향을 미치는 pH, 광도, 온도와 같은 환경적 조건에 따른 성장량 및 기질 섭취량 관점에서 *A. platensis*의 종특이성을 파악하고자 했으며, *A. platensis*를 이용한 폐수처리 가능성을 여러 기술적 관점에서 평가하였다.

2. Materials and Methods

2.1 대상 미세조류 선정 및 배양

본 연구에 사용된 미세조류는 Korean Collection for Type Culture (KCTC)에서 분양받은 *Arthrospira platensis* 종을 사용하였고, Fig. 1과 같은 모습이었다. *A. platensis*의 배양용 배지로는 SOT 배지를 사용하였으며, 배지 조성은 Table 1에 나타내었다. SOT 배지는 탄소, 질소, 인으로 구성된 SOT-1과 미량원소 및 마그네슘, 나트륨, 칼륨, 철 등으로 구성된 SOT-2로 이루어져 있으며, 이중에서 배지 내에 필수 영양염

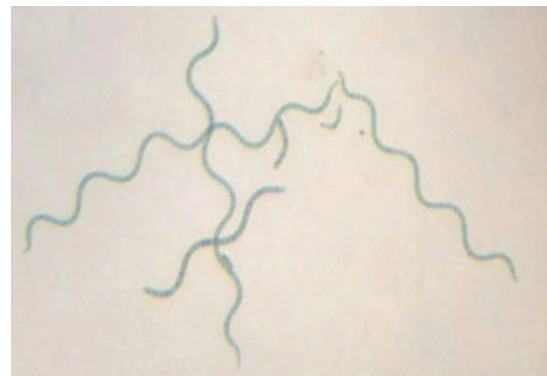


Fig. 1. Shape of *Arthrospira platensis* (×100) (Carvalho, 2013)

Table 1. Composition of SOT medium for *A. platensis* culture

		Components	Amount
SOT-1 (Distilled water 600 ml)		NaHCO ₃	16.8 g
		K ₂ HPO ₄	0.5 g
		NaNO ₃	2.5 g
SOT-2 (Distilled water 400 ml)		K ₂ SO ₄	1.0 g
		NaCl	1.0 g
		MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
		CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.04 g
		Na ₂ · EDTA	0.08 g
		FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01 g
		A5 Trace-metals solution	1 mL
A5 Trace-metals solution (Distilled water 1 L)		H ₃ BO ₃	2.86 g
		MnSO ₄ · 7H ₂ O	2.50 g
		ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22 g
		Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.21 g
		CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.08 g

류인 탄소, 질소, 인이 전체 배지 성상의 약 70%를 차지한다.

*A. platensis*를 배양하기 위해 계대배양 후 전배양 과정을 거쳤다. 계대배양을 위해 SOT-1과 SOT-2는 120°C에서 15분 동안 고압 멸균기에서 멸균 후, SOT-1과 SOT-2를 혼합한 배지에 *A. platensis*를 접종하였다. 이후 25°C, 100 PPFD 조건의 광배양기(HB-305M, Hanbeak CO, KOREA)에서 계대배양이 진행되었다.

또한, Grant et al. (1990)의 연구에서 *A. platensis*는 pH 8 이상의 알칼리성을 요구한다는 사실을 기반으로, 계대배양 후 보존 중인 *A. platensis*를 항온챔버 및 pH controller를 이용하여, 25°C, pH 9±0.5 및 200 PPFD 광도 조건에서 전배양을 진행하였다.

2.2 분석 방법

2.2.1 OD(Optical Density) 측정

*A. platensis*의 성장량을 평가하기 위하여 OD 측정을 실시하였다. 미세조류 시료를 10 ml 채취하여 충분히 교반한 후에 spectrophotometer(Optizen POP, Mecasys, KOREA)를 이용하여, 660 nm의 파장에서 흡광도를 측정 후, 검량선에 대입하여 OD를 측정하였다.

2.2.2 무기탄소 측정

시료 중의 미세조류를 포함한 입자성 물질을 제거하기 위해, 전처리로서 0.45 µm 여지(Whatman, NO. 1822-047, UK)로 여과하였다. 전처리된 시료를 희석하여 TOC analyzer(TOC-V, SHIMADZU Co., Japan)를 이용하여 분석하였다. 즉, TOC analyzer는 시료의 총탄소(TC)에서 총무기탄소(TIC)를 감해줌으로써 TOC 값이 얻어지므로, 이때의 TIC 값을 무기탄소의 양으로 사용하였다.

2.2.3 질소 및 인 측정

*A. platensis*의 질소 및 인 소비량은 Auto-sampler를 장착한 수질자동분석기 AA3(AutoAnalyzer 3, SEAL Analytical, Germany)를 이용하여 NO₃-N은 550nm, PO₄-P는 800nm 흡광파장에서 측정하였다. 측정에 앞서 표준용액을 이용한 검량선을 작성하고, 이어서 미세조류를 포함한 입자성 물질을 제거하기 위해, 전처리로서 시료를 0.45µm 여지(Whatman, NO. 1822-047, UK)로 여과한 후, 전처리 시료를 5배 희석하여 질소와 인을 분석하였다.

3. Results and Discussion

3.1 *A. platensis* 적정배양을 위한 교반방법 결정

Wang and Lan (2018)의 연구에 따르면, 평균 200 µm의 사상 형태인 *A. platensis*는 교반에 의한 shear stress에 취약하여, 교반조건이 부적절한 경우, *A. platensis* 개체가 손상되어 성장에 심각한 저해를 받을 수도 있다고 보고되었다.

따라서, *A. platensis*를 배양할 때, 교반에 의한 저해를 최소화하고자, 진탕교반기를 이용하여 배양을 진행하였음에도

배양과정에서 *A. platensis*가 응집부유되는 현상이 발생하였다. 이와 관련하여 *A. platensis*가 교반에 의해 쉽게 응집되는 현상은 본 연구뿐만 아니라, Akaberi (2020)와 Zanolla et al. (2022)의 연구에서도 보고된 바 있다.

이에 본 연구에서는 *A. platensis*의 종특이성에 대한 본 실험을 진행하기에 앞서, *A. platensis*의 적절한 배양을 위한 교반방법을 도출할 필요성이 있다고 판단, 교반이 없는 조건, 폭기를 통한 교반, 진탕교반기를 이용한 교반, 그리고 마그네틱-바를 이용한 교반방법의 적절성에 대하여 검토하였다.

3.1.1 실험 조건 및 방법

*A. platensis*의 적정 교반조건을 도출하기 위해, 2 L 삼각플라스크에 working volume 1 L, 초기 접종농도 0.1OD로 접종 후, 교반이 없는 조건, 폭기를 통한 교반, 진탕교반기를 이용한 교반, 그리고 마그네틱-바를 이용한 교반조건을 대상으로 실험을 진행하였다.

진탕교반과 마그네틱-바 교반의 경우, *A. platensis*는 교반에 의한 저해영향이 커서(Krüger and Eloff, 1978) 가장 낮은 교반속도(본 실험에선 80rpm)로 설정하였으며, 폭기유량을 경우 *A. platensis*가 스트레스를 받을 우려가 있어, 폭기는 산기석을 이용하여 0.2 L/min로 실시하였다.

사용된 배지는 앞서 Table 1에서 제시된 SOT 배지로, Woertz (2009)의 연구에 의하면 미세조류 성장에 필요한 최적의 C : N : P ratio가 50 : 8 : 1로 보고된 바, 이를 바탕으로 탄소는 NaHCO₃ 400 mg-C/L, 질소는 NaNO₃ 100 mg-N/L, 인은 KH₂PO₄를 10 mg-P/L로 조절한 수정된 SOT 배지(modified SOT medium)를 사용하였다.

광조사는 white LED bar를 이용하여 200 PPFD의 광도로 매일 24시간으로 종일 조사하였으며, 챔버 온도는 25°C, pH는 *A. platensis*가 pH 8 이상의 알칼리성이 요구되기 때문에, 문헌을 참고하여 pH controller를 사용하여 pH 9±0.5를 유지시켰다. 전술한 네 가지 교반방법에 따른 *A. platensis*의 성장량 및 기질 섭취량을 파악하기 위하여, 10 ml씩 시료 샘플링 후 OD, 무기탄소, 질소, 그리고 인을 측정하였다.

3.1.2 *A. platensis* 적정배양을 위한 교반조건

배양과정에서 *A. platensis*가 응집되는 현상을 해결하고자, 교반방법에 따른 *A. platensis*의 응집 여부를 알아본 결과, 마그네틱-바를 이용한 교반을 제외한 모든 조건에서 *A. platensis*가 응집되는 현상이 발견되었다.

그러나, 마그네틱-바를 이용한 교반이 *A. platensis*의 응집은 발생하지 않았으나, *A. platensis*가 성장하기에 최적의 교반방법인지 검증이 필요하였다. 그러므로 교반방법에 따른 비성장속도, 기질섭취, 그리고 추가적으로 현미경 관찰을 실시하였다.

교반방법에 따른 *A. platensis*의 비성장속도를 분석한 결과, 교반이 없는 조건은 0.14/day, 진탕교반기는 0.32/day, 폭기를 통한 교반에서는 0.32/day, 그리고 마그네틱-바를 이용한 교반에서는 0.36/day로 나타났다. 교반이 없는 조건을 제외한 나머지 조건에서의 비성장속도는 서로 유의한 차이를 보

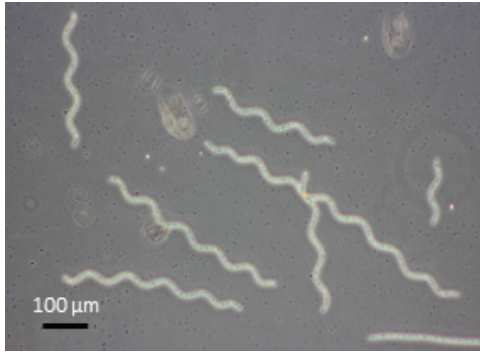


Fig. 2. The shape of *A. platensis* 5 days after in magnetic stirring method (×100)

이지 않았으나, 근소하게 마그네틱-바를 이용한 교반에서 높았다. 따라서 *A. platensis*의 성장에 미치는 마그네틱 교반의 부정적인 영향은 없었다고 판단되었다.

기질섭취 관점에서 보면, 교반이 없는 조건에서 일 평균 탄소 소비량은 2.00 mg-C/L, 질소 소비량은 0.34 mg-N/L, 인 소비량은 0.26 mg-P/L로 제대로 이루어지지 않았다. 진탕교반기, 폭기, 그리고 마그네틱-바를 이용한 교반에서의 일 평균 탄소 소비량은 31.32 mg-C/L, 30.40 mg-C/L, 35.81 mg-C/L, 일 평균 질소 소비량은 7.24 mg-N/L, 7.40 mg-N/L, 8.28 mg-N/L, 그리고 일 평균 인 소비량은 0.84 mg-P/L, 0.86 mg-P/L, 1.04 mg-P/L로 모두 비슷하게 기질을 섭취하였으나, 마그네틱-바를 이용한 교반에서 기질섭취가 근소하게 높았다. 이는 마그네틱 교반이 *A. platensis*의 기질섭취에 부정적인 영향이 없었다고 판단된다.

또한, 마그네틱-바를 이용한 교반에서, *A. platensis*의 교반에 따른 shear stress성 손상여부를 파악하고자, 현미경 관찰을 실시하였다. Fig. 2과 같이 *A. platensis*의 평균 세포 길이인 200 μm를 잘 유지하고 있고, 육안상 표면 손상이 관찰되지 않았기 때문에 교반에 의한 물리적 피해를 거의 받지 않았다고 사료되었다(Tomaselli, 1997).

그러나, 교반방법 중 마그네틱-바를 이용한 교반만 *A. platensis*의 응집이 발생되지 않아, 본 실험의 근본적 문제는 해결하였으나, 이 교반방법이 *A. platensis*의 성장을 위한 적합한 교반방법인지 검증이 필요하였다. 이에 비성장속도, 기질섭취, 그리고 추가적으로 현미경 관찰을 실시한 결과, *A. platensis*의 성장에 미치는 마그네틱 교반의 부정적인 영향은 없었다고 판단되었다. 따라서 추후 *A. platensis*를 배양하는 모든 경우, 마그네틱-바를 이용한 저속교반을 채용하였다.

3.2 *A. platensis*의 종 특이성 파악

3.2.1 pH가 *A. platensis*의 성장에 미치는 영향

(1) 실험 조건 및 방법

pH가 *A. platensis*의 성장량 및 기질소비에 미치는 영향을 파악하기 위해, working volume 1 L 삼각플라스크에 초기 농도 0.2 OD로 *A. platensis*를 접종 후, pH controller를 이용

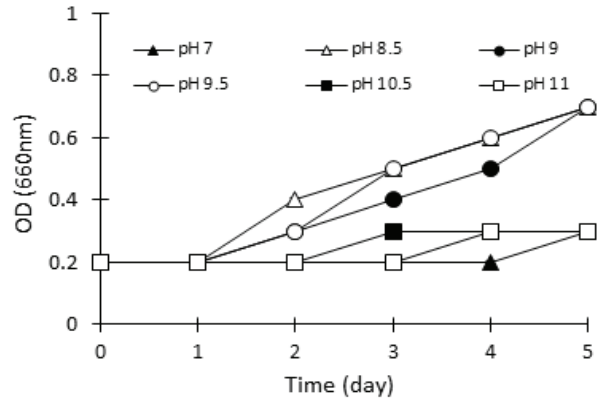


Fig. 3. OD changes of *A. platensis* between pH 7 and 11

하여 pH 7.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.5 및 11.0을 ±0.5 이내로 0.1N H₂SO₄를 주입하면서 유지하도록 하였다.

사용된 배지는 3.1.1의 수정된 SOT 배지(modified SOT medium)와 유사하게, 탄소원은 NaHCO₃ 400 mg-C/L, 질소원은 NaNO₃ 200 mg-N/L, 인원은 KH₂PO₄ 20 mg-P/L로 조정하여 사용하였다.

광조사는 white LED bar를 이용하여 200 PPFD의 광도로 매일 24시간 종일조사하였으며, 챔버 온도는 25°C, 교반은 3.1.2의 결과를 바탕으로 마그네틱-바를 이용하여 80 rpm으로 교반하였다. pH에 따른 *A. platensis*의 성장량 및 기질 섭취량을 파악하기 위하여, 시료를 10 ml 샘플링 후 OD, 무기탄소, 질소, 그리고 인을 분석하였다.

(2) pH 조건에 따른 *A. platensis*의 성장특성

*A. platensis*의 성장에 미치는 pH의 영향을 pH 7.0~11.0에 대하여 5일에 걸쳐 실험한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

pH별 성장량을 비교하였을 때, 전체적인 성장량은 pH가 증가함에 따라 우세하였으며, pH 8.5~9.5에서 가장 높은 성장량을 보였다.

비성장속도 관점에서 *A. platensis*는 pH 7.0과 pH 10.5~11.0에서 0.08/day로 낮은 속도를 보이며, pH 8.5~9.5에서는 0.25/day로 pH 7.0과 pH 10.5~11.0에 비해 3배가량 높은 값을 보였다. Grant et al. (1990)의 연구에 따르면, *A. platensis*는 알칼리성 조류이기 때문에 pH 7.0에서의 비성장속도는 최대 비성장속도의 약 20% 수준이었다고 보고하였는데, 본 실험에서도 pH 7.0에서 최대치의 약 30% 수준인 0.08/day 값을 보였다.

또한, pH 8.5~9.5 보다 높은 알칼리성 조건임에도 불구하고, *A. platensis*가 pH 10.5~11.0에서 성장이 낮은 원인에 대해서는, pH에 따른 사용 가능한 무기탄소의 양과 광합성 과정에서 탄소고정에 관여하는 효소의 활성 관점에서 설명될 수 있다.

사용 가능한 무기탄소의 양과 관련하여 Fig. 4에서 알 수 있듯이, pH에 따라서 수종의 무기탄소는 CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻ 형태가 서로 화학적 평형을 이루고 존재하는데, 미세조류는 CO₂, HCO₃⁻ 형태의 무기탄소는 잘 이용하는 반면,

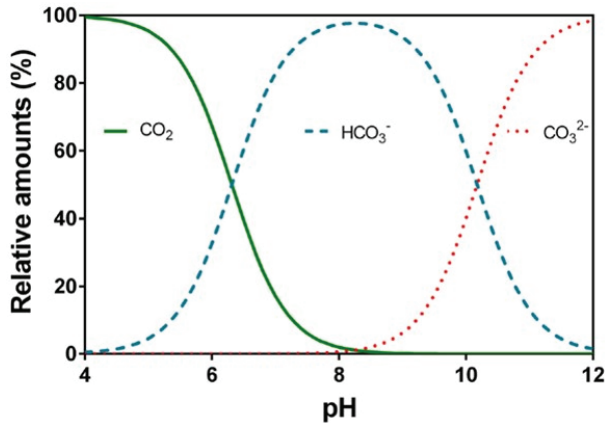


Fig. 4. Relative amounts of inorganic carbons according to pH (Pedersen et al., 2013)

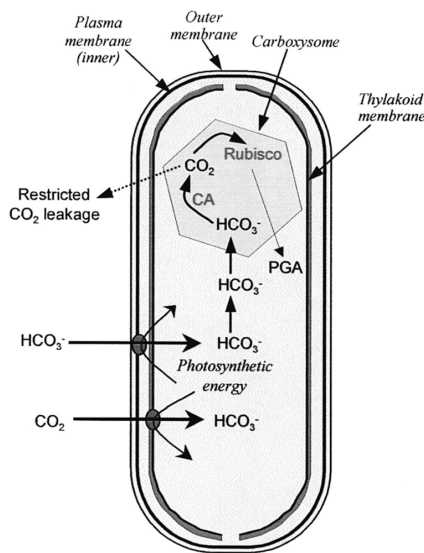


Fig. 5. CCM of blue-green algae (Badger and Price, 2003)

CO₃²⁻는 대사하지 못한다. 따라서, pH 10.5~11.0에서는 HCO₃⁻와 CO₃²⁻가 평형을 이루므로 미세조류가 이용할 수 있는 HCO₃⁻의 비율이 매우 낮으며, 이러한 이유로 대사에 이용될 수 있는 무기탄소의 양이 상당히 제한되어 성장속도가 0.08/day로 낮았다고 판단된다.

적정 pH 이상의 알칼리성 조건에서 미세조류의 성장이 저해를 받는 또 하나의 이유로, 광합성 과정에서 탄소고정에 관여하는 효소의 활성을 저하시킬 수 있는데, 이에 대해서는 Fig. 5의 CO₂ Concentrating Mechanism (CCM) 기작을 통해서 설명될 수 있다.

CCM이란 carboxysome 내에서 carbonic anhydrase (CA) 효소에 의해 HCO₃⁻를 CO₂로 고정하는 메커니즘이다. Carboxysome 내에는 광합성 효소인 Rubisco가 존재하는데, Rubisco 효소는 광합성 과정에서 CO₂를 고정시키고, 광호흡 과정에서는 O₂를 고정시킨다. 따라서, CCM은 Rubisco 효소 주변에 CO₂ 농도를 증가시킴으로써, 광호흡 보다 광합성 기작을 우세하게 한다. (Price et al., 2013)

이러한 CCM 과정에서 CA 효소는 HCO₃⁻를 CO₂로 고정하는 핵심적인 역할을 담당하는데, CA의 활성은 pH 8.0~9.0 범위에서 최적이기 때문에 (Muley et al., 2014), 보다 강한 알칼리성 조건임에도 불구하고 pH 10.5~11.0에서 CA의 활성이 오히려 낮아지고, 이로 인해 *A. platensis*의 성장이 저해를 받았다고 사료된다.

3.2.2 광도가 *A. platensis*의 성장에 미치는 영향

(1) 실험 조건 및 방법

광도가 *A. platensis*의 성장량 및 기질소비에 미치는 영향을 파악하기 위해, working volume 1 L 삼각플라스크에 초기 농도 0.2 OD로 *A. platensis*를 접종 후, 광도 50, 100, 200, 300, 400, 500 PPFD로 설정하여, 실험을 진행하였다.

사용된 배지는 3.1.1의 수정된 SOT 배지(modified SOT medium)와 유사하게, 탄소는 NaHCO₃ 300 mg-C/L, 질소는 NaNO₃ 50 mg-N/L, 인은 KH₂PO₄를 10 mg-P/L로 조정하여 사용하였다.

광도가 *A. platensis*의 성장에 미치는 영향만을 고려하기 위해, 탄소, 질소, 인은 반응과정에서 고갈되지 않도록 잔여 농도가 일정 수준으로 낮아지면, 각각의 초기 주입농도 수준으로 조정해주었다.

챔버 온도는 25°C로 설정하였고, 교반은 3.1.2의 결과를 바탕으로 마그네틱-바를 이용하여 80 rpm으로 교반하였으며, pH는 3.2.1의 연구결과에 의거, pH controller를 사용하여 pH 9±0.5로 제어하였다. 광도에 따른 *A. platensis*의 성장량 및 기질섭취량을 파악하기 위하여, 시료를 10 ml 샘플링 후 OD, 무기탄소, 질소, 그리고 인을 측정하였다.

(2) 광도 조건에 따른 *A. platensis*의 성장특성

*A. platensis*의 성장에 미치는 광도의 영향을 50~500 PPFD에 대하여 6일에 걸쳐 실험한 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

광도별 성장량을 비교하였을 때, 전체적인 성장량은 광도가 증가함에 따라 증가하여 400 PPFD에서 가장 높은 성장량을 보였으나, 500 PPFD는 가장 낮은 성장량을 보였다.

광도에 따른 성장특성을 명확히 평가하기 위하여, 500 PPFD

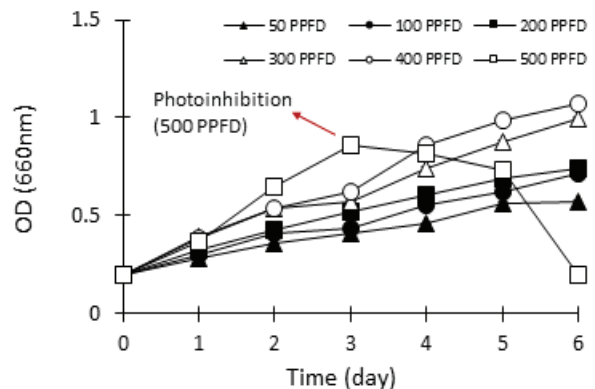


Fig. 6. OD changes of *A. platensis* according to light intensity

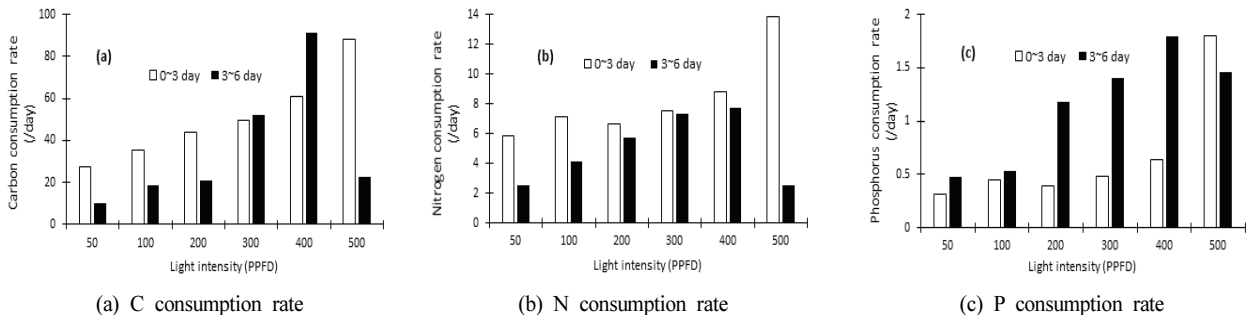


Fig. 7. Substrate consumption rate during 0~3 day and 3~6 day according to light intensity

에서 성장에 저해를 받기 전(실험개시 후 0~3일)과 후(실험개시 후 3~6일)로 나누어 광도별 비성장속도를 비교하였다.

0~3일까지의 비성장속도를 산출한 결과, 50 PPFD는 0.23/day, 100 PPFD는 0.28/day, 200 PPFD는 0.32/day, 300 PPFD는 0.38/day, 400 PPFD는 0.40/day, 500 PPFD는 0.48/day로 광도가 증가할수록 더 높은 성장속도를 보였으며, 500 PPFD에서 가장 높았다.

광도가 높을수록 성장량이 높은 원인으로, 미세조류의 대사특성을 들 수 있다. 미세조류는 광합성을 통해 성장하기 때문에, 광도가 높아짐에 따라 광합성 속도가 증가하여 높은 성장량을 보였다고 판단된다.

그러나 3~6일의 비성장속도는 50 PPFD에서 0.13/day, 100 PPFD는 0.14/day, 200 PPFD는 0.16/day, 300 PPFD는 0.16/day, 400 PPFD는 0.17/day, 500 PPFD는 -0.49/day로 0~3일의 비성장속도보다는 감소하였지만, 광도가 증가할수록 성장속도가 높아지는 경향은 동일했으며, 400 PPFD에서 가장 높고 500 PPFD에서는 사멸에 따른 음의 성장을 보였다.

0~3일의 비성장속도가 3~6일 보다 빠른 비성장속도를 보인 이유로, *A. platensis*가 전배양에서 지체기를 거치고 대수기에 도달한 *A. platensis*가 반응조에 접종되어, 0~3일 동안 배지 내의 급격한 영양염류 섭취로 인해 빠른 성장이 이루어진 것으로 생각된다.

또한, 500 PPFD에서 성장이 감소한 이유로 광저해를 들

수 있다. 광저해란 미세조류가 과도한 광도로 인해 광계가 손상받게 되어, 광합성이 저해되는 현상인데, 본 연구에서는 500 PPFD에서 광저해를 받아 성장량이 감소하였다고 판단된다(Han et al., 2000).

광도 50~500 PPFD에 따른 *A. platensis*의 기질소비속도는 Fig. 7에 나타내었으며, 500 PPFD가 광저해를 받았다고 판단되는 3일차를 기준으로, 0~3일과 3~6일로 나누어 기질속도를 고려하였다.

각 기질(C, N, P)들 전반에 걸쳐 공히, 0~3일에서는 광도가 증가함에 따라 기질소비속도가 증가하여 500 PPFD에서 가장 높은 값을 보였으며, 3~6일에서는 400 PPFD에서 가장 높은 값을 보였고, 500 PPFD에서는 기질소비속도가 감소한 결과를 볼 수 있었다. 3~6일에서 500 PPFD의 기질소비속도가 감소한 이유는 앞서 설명한 바와 같이 광저해로 인해 광합성 대사 저해라고 판단되었다.

500 PPFD에서 광저해를 받은 이후, 탄소 소비속도는 3.8배, 질소 소비속도는 5.5배, 인 소비속도는 1.2배 감소하는 결과가 도출되었으며, 인 소비속도의 경우는 광저해를 받기 전과 후가 1.80 mg-P/L/day 및 1.46 mg-P/L/day로 광저해 후의 인 소비가 감소하였음에도, 다소 높은 탄소 소비속도를 보였다. 이에 대한 이유로는 광저해로 인해 손상된 광계를 복구하기 위하여, 많은 양의 ATP가 필요하기 때문에, ATP 생성을 위해 인의 소비속도가 높았을 가능성이 있다고 추측

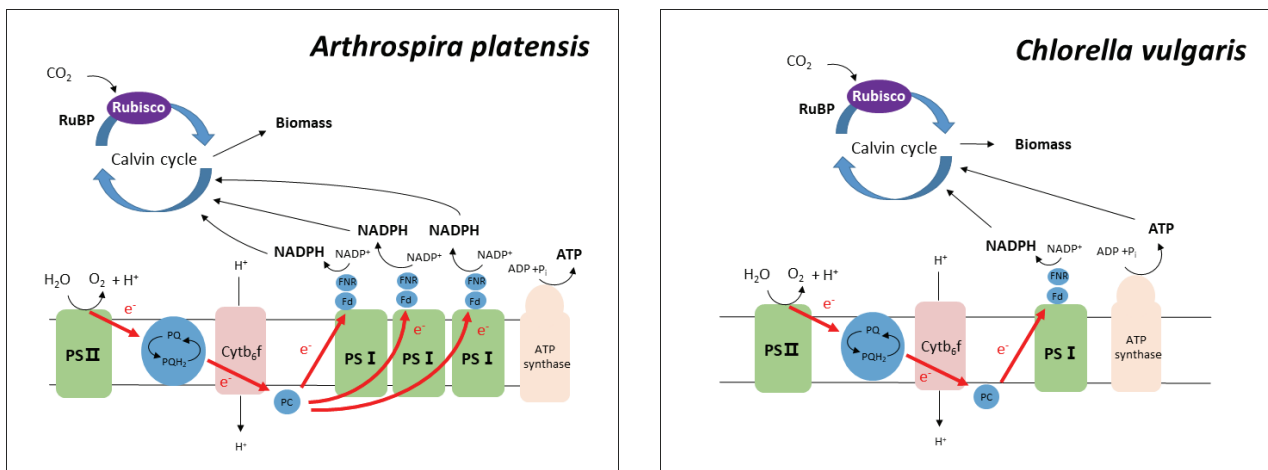


Fig. 8. Characteristics of metabolic mechanisms of *A. platensis* and *C. vulgaris* according to the numbers of PS-I

된다(Murata and Nishiyama, 2018).

한편, 대표적으로 하폐수처리에 이용되는 *C. vulgaris*의 적정 광도는 100~200 PPFD임에 반해, *A. platensis*의 적정 광도는 400 PPFD로 상대적으로 2배 가량 높게 도출되었는데, 이에 대해서는 *A. platensis*의 광계-I 개수가 *C. vulgaris*의 경우에 비해 월등히 많기 때문이라고 판단된다.

Vermaas (2001)에 의하면, 남조류는 광계-II 보다 광계-I의 수가 더 많다고 알려져 있다. 예를 들어, *C. vulgaris*와 같은 녹조류의 경우, 광계-I : 광계-II = 1 : 1 이지만, 남조류인 *Synechocystis sp.*의 경우 5 : 1 이다. 이러한 사실들을 바탕으로 Fig. 8에 광계-I의 개수에 따른 *A. platensis*와 *C. vulgaris*의 특징적 대사 메커니즘 개념을 제시하였다. Fig. 8에서 *A. platensis*는 남조류로서 *C. vulgaris*에 비해 광계-I이 많이 존재하기 때문에, 광합성의 명반응 중 광계-II에서 광계-I으로 전달되는 전자량이 많이 요구될 것이라 추측된다. 결론적으로, 요구되는 전자량을 충족시키기 위하여 빛에너지가 많이 필요하며, 이러한 대사적 특성으로부터 *A. platensis*의 적정 광도가 *C. vulgaris*에 비해 높아졌을 것으로 사료된다.

3.2.3 온도가 *A. platensis*의 성장에 미치는 영향

(1) 실험 조건 및 방법

온도가 *A. platensis*의 성장량 및 기질소비에 미치는 영향을 파악하기 위해, working volume 1 L인 삼각플라스크에 초기 농도 0.2 OD로 *A. platensis*를 접종 후, 배양온도 10, 20, 30°C로 설정하여 실험을 진행하였다.

사용된 배지는 3.1.1의 수정된 SOT 배지(modified SOT medium)와 유사하게, 탄소는 NaHCO₃ 300 mg-C/L, 질소는 NaNO₃ 50 mg-N/L, 인은 KH₂PO₄를 10 mg-P/L로 조정하여 사용하였다.

광조사는 white LED bar를 이용하여 200 PPFD의 광도로 매일 24시간 종일 조사하였으며, 교반은 3.1.2의 결과를 바탕으로 마그네틱-바를 이용하여 80 rpm으로 교반하였으며, pH는 3.2.1의 연구결과에 의거하여, pH controller를 사용하여 pH 9±0.5로 제어하였다. 온도에 따른 *A. platensis*의 성장량 및 기질섭취량을 파악하기 위하여, 시료 10 ml를 샘플링 후 OD, 무기탄소, 질소, 그리고 인을 측정하였다.

(2) 온도 조건에 따른 *A. platensis*의 성장특성

*A. platensis*의 성장에 미치는 온도의 영향을 10~30°C에 대하여 6일에 걸쳐 실험한 결과를 Fig. 9에 나타내었다.

온도별 성장량을 비교하였을 때, 전체적인 성장량은 온도가 증가함에 따라 우세하였으며, 30°C에서 가장 높은 성장량을 보였다. 비성장속도 관점으론 10°C에서 0.06/day, 20°C에서 0.19/day, 30°C에서 0.27/day로 온도가 10°C씩 증가할수록 비성장속도는 약 3배 및 1.4배 증가하였다.

온도가 증가함에 따라 높은 성장량을 보인 이유로, 온도에 따른 광계의 전자전달 속도 차이를 들 수 있다. 광합성의 명반응은 조류의 thylakoid 막의 광계-II에서 광계-I으로 전자

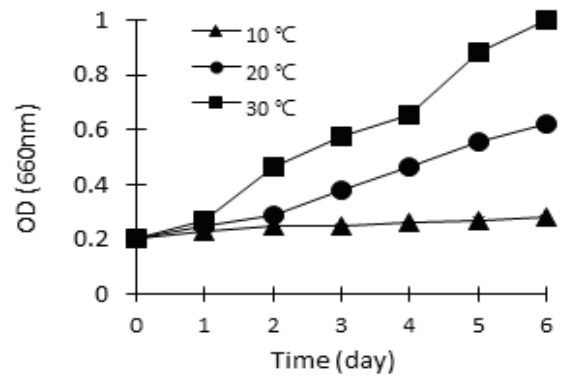


Fig. 9. OD changes of *A. platensis* according to temperature

가 전달되면서 ATP, NADPH가 생성되는데, Miskiewicz et al. (2002)에 따르면, 온도가 높아질수록 광계-II의 광수확안테나인 phycobilisome에서 광계-II로의 전자전달속도가 높아지기 때문에 ATP, NADPH의 생성이 많아진다고 한다. ATP, NADPH는 광합성의 암반응에서 사용되어 캘빈회로를 통해 무기탄소가 유기화합물로 전환시키는 역할을 하는 동시에, 캘빈회로에서 이산화탄소를 고정하는 효소인 Rubisco를 활성화시킨다. 따라서 온도가 높아짐에 따라 광계의 전자전달 속도가 높아져 ATP, NADPH의 생성이 많아지고, 이는 Rubisco를 활성화시켜 광합성 효율을 증가시키기 때문에, 온도가 증가함에 따라 성장량이 높았다고 판단된다.

기질섭취 관점에서 평가하면, 10°C에서의 탄소 소비속도는 13.69 mg-C/L/day, 질소 소비속도는 0.72 mg-N/L/day, 인 소비속도는 0.16 mg-P/L/day, 20°C에서의 탄소 소비속도는 26.87 mg-C/L/day, 질소 소비속도는 5.57 mg-N/L/day, 인 소비속도는 0.49 mg-P/L/day, 그리고 30°C에서의 탄소 소비속도는 39.61 mg-C/L/day, 질소 소비속도는 7.44 mg-N/L/day, 인 소비속도는 0.94 mg-P/L/day로, 온도별 *A. platensis*의 기질섭취속도는 예상대로 30°C에서 가장 높았다.

한편, 하폐수처리에 대표적으로 많이 적용되는 *C. vulgaris*의 적정 온도는 평균 25°C임에 반해, *A. platensis*의 적정 온도는 30°C로 다소 높게 도출되었는데, 이는 Fig. 8에서 설명될 수 있다. 즉, 온도가 높아짐에 따라 광계로 전달되는 전자속도가 높아지지만, *A. platensis*는 광계-I의 개수가 많기 때문에, 많은 양의 전자를 수송하는 능력이 충족되어, *C. vulgaris*보다 *A. platensis*의 적정 온도가 높다고 추측된다.

3.3 알칼리성 미세조류 *A. platensis*의 폐수처리 적용 가능성

3.3.1 *A. platensis* 대사 및 종 특이성에 적합한 대상폐수 검토 및 관리

미세조류 중 상당수는 autotrophic, heterotrophic 대사가 동시에 가능한 mixotrophic 대사를 수행하는데, *A. platensis*도 mixotrophic 대사가 가능하다. Mixotrophic 대사는 유기탄소도 대사하므로 autotrophic 대사에 비해, 탄소, 질소, 인의 제거효율이 좋아 높은 비성장속도를 나타낸다. 대부분의 폐수

는 유기성 폐수이므로, *A. platensis*를 mixotrophic 대사 환경에서 적용하는 것은 매우 효과적이다.

*A. platensis*는 pH 9에서 대사가 최적화된 알칼리성 조류이므로, 처리대상 폐수의 pH가 이 수준이면 바람직하다. 그러나, 암모니아성 질소를 함유하는 폐수의 경우, 미세조류에 저해를 유발하는 FA 농도가 수온이 일정할 경우 pH가 증가할수록 증가하므로, *A. platensis*의 적용에 있어서는 이에 대한 충분한 검토가 필요하다.

Mixotrophic 대사에 있어서는, autotrophic 기작에서 섭취 가능한 무기탄소양(유입폐수에 함유되어 있거나, 대기로부터 공급되는 이산화탄소)에 대한 검토 역시 필요한데, 알칼리 영역에서는 미세조류가 이용하지 못하는 탄산(CO_3^{2-})을 제거하고 나면, 이용 가능한 무기탄소원은 중탄산(HCO_3^-)인데, 알칼리도가 pH 10 이상으로 높아질수록 평형농도가 급속히 낮아져, *A. platensis* 성장에 부정적 영향을 야기할 수 있으므로 무기탄소원 관점에서 유의할 필요가 있다.

3.3.2 박테리아와의 공배양 기술에 의한 시너지 효과

Mixotrophic 대사가 가능한 *A. platensis*와 호기성 박테리아의 공배양(co-culture)은, *A. platensis*가 광계-II의 광합성 과정에서 발생시킨 산소를 공존하는 호기성 박테리아가 바로 이용할 수 있고, *A. platensis*는 박테리아가 발생시킨 이산화탄소를 무기탄소원으로 충분히 취할 수 있는 대사적 시너지가 높은 폐수처리공정의 핵심기작으로 제안될 수 있다.

또한, *A. platensis*와 박테리아의 공배양은 *A. platensis*의 최적 pH를 고려하면, 박테리아 역시 알칼리 조건에서 최적인 박테리아와 공배양 환경을 조성해 줄 필요가 있는데, 이때 박테리아에 있어 autotrophic 또는 heterotrophic 대사 중 어느 조건이 우세한가에 따라 공배양의 시너지 효과는 달라질 것으로 판단된다.

그러나, 본 연구진의 경험에 의하면, 미세조류와 박테리아의 공배양은 순수 미세조류 시스템이 박테리아에 의해 오염되는(특히, 글루코스를 유기탄소원으로 주입하는 미세조류 시스템 연구에서 매우 빈번함) 경우와 차별화하는 것이 현재로서는 쉽지가 않은 바, 공배양 시스템 연구는 주로 autotrophic 대사 미세조류 연구를 전제로 주로 수행되어 온 한계가 있어, 유기성 폐수처리 시스템으로까지 실증화하기 위한 유기탄소원 함유 유입폐수 대상의 추가적인 연구가 필요한 현실이다.

3.3.3 *A. platensis* 수확 및 처리 시스템의 경제성

미세조류 배양 시스템의 경우, 전처리 및 후처리를 포함한 수확공정이 전체 운영비의 약 20~30%를 차지한다는 보고가 있듯이, 폐수처리 시스템의 운영에 있어 부가가치 높은 미세조류를 효과적이면서 경제적으로 수확하기 위한 방법으로, 현재 원심분리, 화학 및 전기응집, 중력침강, 가압부상(DAF) 등의 기술을 적용하고 있다.

전술한 수확기술의 처리효율과 깊은 상관성이 있는 중요한 요소 중의 하나가 다세포성인 미세조류의 형태적 관점인데, 가장 많이 알려진 구형 미세조류인 *C. vulgaris*의 직경이 5~10 μm 인 반면, 본 연구에서 다룬 사상형 조류인 *A. platensis*

의 평균 길이는 200 μm 에 이른다. 이외에도 박테리아와 달리 미세조류는 매우 다양한 크기와 형태를 갖는 수 많은 종이 존재하는데, 이러한 형태학적 차이가 수확에 있어 효율을 좌우하는 큰 변수로 작용할 것으로 판단되는 바, 이 부분에 대한 각 미세조류의 종 특이성을 고려한 향후 연구가 절실하다고 할 수 있다.

미세조류에 의한 새로운 개념의 폐수처리공정은 기존 A2O 공정에서의 호기-무산소를 기반으로 하는 질소제거공정과 혐기-호기법에 의한 인제거 공정(luxury-uptake)이 불필요하므로, 혐기-호기-무산소조로 구성되는 세 가지 반응조를 질소, 인 제거능이 박테리아 보다 뛰어난 미세조류를 적용한 Microalgal-biosystem 하나로 통합시킬 수 있어, 처리효율이 뛰어나는 뿐만 아니라 소요부지가 대폭 절약되어 경제성도 우수할 것으로 기대된다.

뿐만 아니라, 전술한 미세조류-박테리아 공배양 시스템의 경우, 광합성 과정에서 발생하는 산소가 처리수의 DO를 포화 DO 수준까지 단시간에 높여주므로, 기존 활성슬러지법에서 폭기조의 DO를 유지시켜주기 위해 필수적으로 수행하던 폭기공정이 생략될 수 있어, 운영비 관점에서 50% 수준의 엄청난 비용이 절감될 수 있을 것으로 기대된다.

그러나 미세조류에 의한 폐수처리시스템 개발에 대해서는 국내외적으로 최근 많은 연구가 진행되고 있고, 의미심장한 성과도 많이 거두었다고 사료되나, 실증화 관점에서 바라본다면 아직도 시스템의 안정화 및 표준화 관점에서 해결해야 할 사항들이 산재해 있는 바, 의미있는 많은 연구가 필요하다.

4. Conclusion

본 연구에서는 사상형 호열기성 조류인 *A. platensis*를 폐수처리에 적용하기 위해, pH, 광도, 온도에 대한 기본적인 종특이성을 파악하고, 그 결과를 바탕으로 알칼리성 폐수처리 적용 가능성에 대하여 검토하였다. 배양과정에서 *A. platensis*가 응집되는 현상을 해결하고자 교반방법을 검토하여, 마그네틱-바를 이용한 저속교반이 적합하다고 판단하였다.

pH 7.0~11.0에 대한 *A. platensis*의 비성장속도 검토결과, pH 9 부근에서 가장 높은 비성장속도를 보였으며, 상대적으로 낮은 pH 7과 높은 pH 11에서 pH 9에 비해 공히 약 3배 가량 낮은 비성장속도를 보였다. pH 9 보다 높은 pH 11에서 낮은 성장을 보인 원인으로, pH 11에서는 *A. platensis*가 탄소원으로 이용할 수 있는 HCO_3^- 의 비율이 매우 낮았기 때문이라고 판단되었다. 두 번째 원인으로, 광합성 과정에서 탄소고정에 관여하는 CA 효소가 pH 8.0~9.0 에서 활성이 가장 높으므로, 보다 강한 알칼리성인 pH 11에서는 CA의 활성이 낮아졌을 것으로 추측되었다.

또한, *A. platensis*는 광도 400 PPFD와 30°C 온도에서 최적의 성장을 보였는데, 이에 대한 이유로 *A. platensis*가 thylakoid membrane에서 광계-II에 비해 광계-I의 개수가 많기 때문이라 판단하였다. 즉, *A. platensis*와 같은 남조류는 광계-I의 개수가 광계-II 보다 많아, 광계-II에서 광계-I에 전달할 전자를 충분히 발생시키기 위해 보다 높은 광도와

온도가 요구되었던 것으로 추측되었다.

*A. platensis*의 폐수처리 적용 가능성에 대해서는 다음과 같이 제언하였다. 첫 번째로 대사 관점에서 살펴보았을 때, *A. platensis*는 mixotrophic 대사가 가능하며 pH 9에서 최적의 성장을 갖는 호염기성 조류이므로, pH 9 수준의 알칼리성 폐수에 mixotrophic 대사 형태로 적용하는 것이 적합하다고 판단된다. 그러나, 이 경우 mixotrophic 대사에서 섭취할 무기탄소가 pH 증가에 따라 감소하기 때문에, 이에 대하여 유의할 필요가 있다. 두 번째는 박테리아와의 공배양에 의해 대사적 시너지가 높은 폐수고도처리공정을 제안될 수 있다. 그러나, 미세조류와 박테리아의 공배양은 박테리아에 의한 오염과 차별화가 어려워, 현재까지 공배양 시스템 연구는 주로 autotrophic 대사에 대해 수행되어 온 바, 향후 유기성 폐수 대상의 공배양 연구가 필요한 실정이다. 마지막으로 *A. platensis*의 효과적인 수확을 위해서는 형태적 관점의 검토가 필요하다. 즉, *C. vulgaris*가 직경 5~10 μm의 구형인 반면, 사상형인 *A. platensis*는 평균 길이 약 200 μm로 응집체를 사용하지 않고도 효과적이고 경제적인 수확이 가능하다는 장점을 갖고 있다. 결론적으로, *A. platensis*를 공배양 시스템을 이용해 적정한 알칼리성 폐수의 처리에 적용할 경우, 효율적인 폐수처리 및 수확이 가능할 것으로 기대되는 바, 향후 추가적인 연구가 절실하다.

Acknowledgement

이 논문은 2018년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구이며(No.NRF-2019R1A2C1084155) 이에 감사드립니다.

References

- Akaber, S., Krust, D., Müller, G., Frey, W., and Gusbeth, C. (2020). Impact of incubation conditions on protein and C-phycoyanin recovery from arthrospira platensis post-pulsed electric field treatment, *Bioresource Technology*, 306, 123099.
- Arunakumara, K. and Xuecheng, Z. (2007). How does lead (Pb₂) at low concentrations affect on spirulina (arthrospira) platensis, *Tropical Agricultural Research and Extension*, 10, 47-52.
- Badger, M. R. and Price, G. D. (2003). CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: Molecular components, their diversity and evolution, *Journal of Experimental Botany*, 54(383), 609-622.
- Bajguz, A. (2010). An enhancing effect of exogenous brassinolide on the growth and antioxidant activity in chlorella vulgaris cultures under heavy metals stress, *Environmental and Experimental Botany*, 68(2), 175-179.
- Carvalho, J. C. M., Bezerra, R. P., Matsudo, M. C., and Sato, S. (2013). Cultivation of arthrospira (Spirulina) platensis by fed-batch process, In: Lee, J. (eds) Advanced Biofuels and Bioproducts, Springer, New York, NY.
- Chen, Z., Song, S., Wen, Y., Zou, Y., and Liu, H. (2016). Toxicity of cu (II) to the green alga chlorella vulgaris: A perspective of photosynthesis and oxidant stress, *Environmental Science and Pollution Research*, 23(18), 17910-17918.
- Grant, W. D., Mwatha, W. E., and Jones, B. E. (1990). Alkaliphiles: Ecology, diversity and applications, *FEMS Microbiology Reviews*, 6(2-3), 255-269.
- Han, B., Virtanen, M., Koponen, J., and Straškraba, M. (2000). Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: A dynamic model, *Journal of Plankton Research*, 22(5), 865-885.
- Krüger, G. and Eloff, J. N. (1978). The effect of agitation and turbulence of the growth medium on the growth and viability of microcystis, *Journal of the Limnological Society of Southern Africa*, 4(1), 69-74.
- Ministry of Environment (ME). (2021). *Current status of industrial wastewater generation and treatment*, 11-1480000-001452-10, Ministry of Environment. [Korean Literature].
- Miskiewicz, E., Ivanov, A. G., and Huner, N. P. (2002). Stoichiometry of the photosynthetic apparatus and phycobilisome structure of the cyanobacterium plectonema boryanum UTEX 485 are regulated by both light and temperature. *Plant Physiology*, 130(3), 1414-1425.
- Muley, P., Dhumal, M., and Vora, D. (2014). Sequestration of atmospheric carbon dioxide by microbial carbonic anhydrase, *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 8(11), 45-48.
- Murata, N. and Nishiyama, Y. (2018). ATP is a driving force in the repair of photosystem II during photoinhibition, *Plant, Cell and Environment*, 41(2), 285-299.
- Pedersen, O., Colmer, T. D., and Sand-Jensen, K. (2013). Underwater photosynthesis of submerged plants - recent advances and methods, *Frontiers in Plant Science*, 4, 140.
- Price, G. D., Pengelly, J. J., Forster, B., Du, J., Whitney, S. M., von Caemmerer, S., Badger, M. R., Howitt, S. M., and Evans, J. R. (2013). The cyanobacterial CCM as a source of genes for improving photosynthetic CO₂ fixation in crop species, *Journal of Experimental Botany*, 64(3), 753-768.
- Shun Xing, L., Hua Sheng, H., Feng Ying, Z., Nan Sheng, D., and Fang, L (2007). Influence of nitrate on metal sorption and bioaccumulation in marine phytoplankton, dunaliella salina, *Environmental Toxicology*, 22(4), 582-586.
- Tomaselli, L. (1997). *Systematic and ecology*, In: Vonshak A (ed) *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, Taylor and Francis Ltd, London, 1-19, 233.
- Vermaas, W. F. (2001). *Photosynthesis and respiration in cyanobacteria*, ELS.
- Wang, C. and Lan, C. Q. (2018). Effects of shear stress on microalgae - A review, *Biotechnology Advances*, 36(4), 986-1002.
- Woertz, I., Fulton, L., and Lundquist, T. (2009). Nutrient removal & greenhouse gas abatement with CO₂ supplemented algal

- high rate ponds, *Proceedings of the Water Environment Federation*, 2009(10), 5469-5481.
- Yu, Y., Li, X., Wang, Z., Rong, J., Wang, K., Huo, Y., Geng, Y., Li, Y., and Wen, X. (2021). Effects of caprolactam wastewater on algal growth and nutrients removal by *arthrospira platensis*, *Applied Sciences*, 12(1), 227.
- Zanolla, V., Biondi, N., Niccolai, A., Abiusi, F., Adessi, A., Rodolfi, L., and Tredici, M. R. (2022). Protein, phycocyanin, and polysaccharide production by *arthrospira platensis* grown with LED light in annular photobioreactors, *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1189-1199.
- Zhai, J., Li, X., Li, W., Rahaman, M. H., Zhao, Y., Wei, B., and Wei, H. (2017). Optimization of biomass production and nutrients removal by *spirulina platensis* from municipal wastewater, *Ecological Engineering*, 108, 83-92.