creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000235905

2008 年 2月
碩士學位論文

*Pseudomonas aeruginosa*에 의한 NH_4^+ 및 NO_3^-의 동시 제거에 관한 연구

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

環 境 工 學 科

金 世 永

*Pseudomonas aeruginosa*에 의한 NH_4^+ 및 NO_3^-의 동시 제거에 관한 연구

A Study on the Simultaneou Removal of NH_4^+ and NO_3^- by *Pseudomonas aeruginosa*

2008年 2月 日

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

環 境 工 學 科

金 世 永

*Pseudomonas aeruginosa*에 의한 NH_4^+ 및 NO_3^-의 동시 제거에 관한 연구

指導敎授　鄭 京 勳

이 論文을 工學碩士 學位申請 論文으로 提出함.

2007年 10月　日

朝 鮮 大 學 校　大 學 院

環 境 工 學 科

金　世　永

金世永의 碩士學位論文을 認准함

委員長　朝鮮大學校 敎授　崔 炯 一　印

委　員　朝鮮大學校 敎授　申 大 允　印

委　員　朝鮮大學校 敎授　鄭 京 勳　印

2007年 11月　日

朝鮮大學校 大學院

목 차

List of tables ····· iii
List of figures ····· iv
ABSTRACT ····· vi

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 이론적 고찰 ····· 3

1. 생물학적 질소 제거 이론 ····· 3
1) 질산화 반응 ····· 3
2) 질산화 영향인자 ····· 5
2. 생물학적 탈질화 ····· 9
1) 탈질화 반응 ····· 9
2) 탈질화 영향인자 ····· 10
3. 생물학적 질소제거의 새로운 연구 동향 ····· 13
1) 호기적 탈질 ····· 13
2) 독립 영양 미생물에 의한 혐기성 ammonium 산화 ····· 14
3) 혐기성 암모늄 산화 ····· 14
4. 동시 질산화 및 탈질화 ····· 15

Ⅲ. 실험방법 ····· 16

1. 실험재료 ····· 16

1) 균주 ····· 16
2) 합성배지 ····· 17

2. 실험방법 ····· 17
1) Aerobic culture ····· 17
2) Anaerobic culture ····· 17
3. 분석방법 ····· 18

Ⅳ. 결과 및 고찰 ····· 19

1. NH_4-N 제거 ····· 19
1) 초기 질소농도에 따른 변화 ····· 19
2) 탄소원 변화 ····· 21
3) 초기 Cell농도에 따른 변화 ····· 23
4) NH_4-N 제거에 따른 NO_3-N 변화 ····· 25
2. NO_3-N 제거 ····· 26
1) 초기 질소농도에 따른 NO_3-N 제거 ····· 26
2) 탄소원 변화에 따른 NO_3-N 제거 ····· 28
3) 초기 cell 농도에 따른 NO_3-N 제거 ····· 30
3. NH_4-N과 NO_3-N의 동시제거 ····· 32
1) C/N비 변화 ····· 32
2) 탄소원 변화 ····· 34
3) 초기 질소 농도에 따른 NH_4-N과 NO_3-N 제거 ····· 36
4) 초기 Cell농도 변화 ····· 38
5) Shaking Speed변화 ····· 40
6) 정치 상태의 NH_4-N과 NO_3-N 제거 ····· 42
7) C/N 비에 따른 Glucose 변화 ····· 44
8) 세포의 질소 이용 ····· 45

Ⅴ. 결 론 ····· 46

REFERENCES ····· 47

List of tables

Table 1. Relationships for oxidation and growth in nitrification reaction on in relationship to the carbonic acid system. 7

Table 2. Neutron poison of affecting nitrifying bacteria 8

Table 3. Relationships for nitrate dissimilation and growth in denitrification reactions. 11

Table 4. Comparison of energy yields of nitrate dissimilation vs oxygen respiration for glucose. 12

Table 5. Composition of synthetic wastewater. 16

Table 6. Analytical methods and parameters. 18

List of figures

Fig. 1. Oxidation of nitrogen species during nitrification. ····· 4
Fig. 2. Effects of different nitrogen concentrations on NH_4-N removal. ····· 19
Fig. 3. Effects of different nitrogen concentrations on Cell growth. ····· 20
Fig. 4. Effects of different carbon sources on NH_4-N removal. ····· 21
Fig. 5. Effects of different carbon sources on Cell growth. ····· 22
Fig. 6. Effects of different cell concentrations on NH_4-N removal. ····· 23
Fig. 7. Effects of different cell concentrations on Cell growth. ····· 24
Fig. 8. Variation of NH_4-N, NO_3-N and cell growth. ····· 25
Fig. 9. Effects of different nitrogen concentrations on NO_3-N removal. ····· 26
Fig. 10. Effects of different nitrogen concentrations on Cell growth. ····· 27
Fig. 11. Effects of different carbon sources on NO_3-N removal. ····· 28
Fig. 12. Effects of different carbon sources on Cell growth. ····· 29
Fig. 13. Effects of different cell concentrations on NO_3-N removal. ····· 30

Fig. 14. Effects of different cell concentrations on Cell growth. ····· 31
Fig. 15. Effects of C/N ratios on NH_4-N removal and Cell growth. ····· 32
Fig. 16. Effects of C/N ratios on NO_3-N removal. ····· 33
Fig. 17. Effects of different carbon sources on NH_4-N removal and Cell growth. ····· 34
Fig. 18. Effects of different carbon sources on NO_3-N removal. ····· 35
Fig. 19. Effects of different nitrogen concentrations on NH_4-N removal and Cell growth. ····· 36
Fig. 20. Effects of different nitrogen concentrations on NO_3-N removal. ····· 37
Fig. 21. Effects of different cell concentrations on NH_4-N removal and Cell growth. ····· 38
Fig. 22. Effects of different cell concentrations on NO_3-N removal. ····· 39
Fig. 23. Effects of different shaking speed on NH_4-N-N removal and Cell growth. ····· 40
Fig. 24. Effects of different shaking speed on NO_3-N removal. ····· 41
Fig. 25. Effects of NH_4-N removal and Cell growth from anaerobic condition. ····· 42
Fig. 26. Effects of NO_3-N removal from anaerobic condition. ····· 43
Fig. 27. Effects of different C/N ratios on Glucose removal. ····· 44
Fig. 28. Analysis of total nitrogen in cultural supernatant and cells. ····· 45

ABSTRACT

A Study on the Simultaneou Removal of NH_4^+ and NO_3^- by *Pseudomonas aeruginosa*

by Kim Se Young
Advisor : Prof. Kyung-Hoon Choeong Ph. D.
Department of Enviromental Engineering,
Graduate School, Chosun University

In an effort to develop a new method to remove nitrogen, this study examined the effects of C/N ratio, carbon source and nitrogen concentration on the simultaneous removal of nitrification, denitrification, NH_4^+ and NO_3^- in synthetic medium with the use of *Pseudomonas aeruginosa* separated by Kim and others.

The following experiments were conducted. 150mL medium was poured into 150 mL flask and then *P. aeruginosa* was inoculated into culture fluid (the content of culture medium was 1%) and left in the 140 rpm shaking incubator at 30 ℃. In an experiment to investigate the removal efficiency of NH_4^+ and NO_3^- according to C/N ratio, C/N ratio was maintained between 2.5 and 34.3 with the control of glucose concentration. In an experiment investigating the removal efficiency according to nitrogen source concentration, NH_4NO_3 concentration was controlled to maintain between 50 mg/L and 700 ㎎/L(C/N ratio : 5). And in an experiment to evaluate the

removal efficiency according to carbon source, methanol and acetate were used instead of glucose (C/N ratio : 5). In an experiment investigating the removal efficiency according to the speed of shaking culture, the speeds of shaking incubators were set to 60 rpm, 140 rpm and 200 rpm. And in an experiment to evaluate the removal efficiency according to the early cell concentration of *P. aeruginosa,* the contents of the culture fluids were set to 0.5%, 1%, 2% and 4%. From the analysis, the following results were obtained.

When C/N ratio was higher 5, it was possible to remove nitrification, denitrification, NH_4-N and NO_3-N at the same time. For the simultaneous removal of nitrification, NH_4-N and NO_3-N, glucose is appropriate as carbon source. However, for the removal of denitrification, not only glucose but also acetate can be used as carbon source.

According to the results of the experiment according to early nitrogen concentration, about 85% of nitrification was removed at NH_4-N 350 mg/L. In the case of simultaneous removal, only about 74% of nitrification was removed. As for NO_3-N, it was completely removed at 350 mg/L 700 mg/L.

As early cell concentration get higher, NO_3-N removal time was reduced, but when it was higher than 2%, NO_3-N removal time was similar. NH_4-N did not show any response to the changes in early cell concentration.

The results of the experiment according to the speed of shaking culture found that NH_4-N and NO_3-N removal time was similar when the speed was faster than 140 rpm.

Ⅰ. 서 론

우리 나라는 1960년대 이후 산업화, 도시화 등으로 고도의 경제성장을 이루어 왔으나, 이러한 사회 전반적인 산업구조의 변화에 따라서 각종 폐수의 발생량도 급격히 증가하였고 오염물질의 종류도 더욱 다양화 되었다. 특히, 생활하수, 산업폐수 및 축산폐수 등으로부터 자연의 정화능력을 초과하여 배출되는 오염물질은 수질환경을 더욱 악화시키고 있는 실정이다. 오염을 일으키는 주원인 물질은 유기물을 포함하여, 특히 질소, 인과 같은 영양염류가 하천의 오염을 야기한다. 부영양화를 일으키는 물질 중의 하나인 질소는 여러 가지 형태로 존재한다. 질산성 질소의 형태는 질산화 과정을 거쳐 질산성 질소로 전환되는 경우와 질산성 질소의 형태로 직접 수계로 유입되는 경우가 있다.

생물학적 질소제거를 위한 두 가지 주요 메커니즘은 질산화-탈질이다.
질산-탈질화에 있어서 질소의 감소는 두 변환 단계에서 이루어진다. 첫 단계에서는 호기성 조건하에서 질산화 독립영양 박테리아가 NH_4^+를 NO_3^-로 질산화하고 두 번째 단계에서는 무산소 조건하에서 탈질 박테리아가 NO_3^-를 N_2로 전환시키며 수중에서 대기 중으로 방출된다[1].

최근에는 Mona Kshirsagar 등[2]은 *Thiosphaera pantotropha*가 혼합된 활성슬러지 프로세스에서 NO_3^-의 호기적 탈질을 보고하였고, Joo 등[3]도 *Alcaligenes faecalis*에 의한 NH_4^+의 호기적 탈질을 보고한바 있으며, 여러 종류의 *prokaryotic*와 *eukaryotic heterotrophs*가 NH_4^+를 NO_2 또는 NO_3^-로 질산화 할 수 있음도 알려져 있다[4]. 이러한 미생물들은 단일 반응조에서 질소제거가 가능하기 때문에 폐수처리에 있어서 흥미가 있을 것으로 생각된다. 또한 고농도의 질소를 함유하고 있는 폐수에 대한 경제적인 처리에 관심이 증대되면서 질산화에 필요한 공기량과 알칼리 소모를 절감하고 탈질화에 필요한 유기물 양을 감소시키기 위한 연구가 진척되면서 ANAMMOX반응에 대

한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 그러나 ANAMMOX반응은 독립영양 미생물에 의한 반응으로 미생물 성장속도가 느리며, 유기물을 제거하지 못하는 단점도 있다. 김 등[5)]은 이러한 단점을 극복하고 유기물과 암모니아성 질소와 질산성 질소를 동시에 제거하는 균주를 분리하여 배양조건을 확립한바 있다.

본 연구에서는 질소 제거에 새로운 방법을 개발하고자 김 등[5)]의 분리한 *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하여 합성배지 중의 질산화, 탈질화 및 NH_4^+와 NO_3^-를 동시에 제거하는데 있어서의 C/N비, 탄소원, 질소농도 등의 영향을 검토하고자 한다.

Ⅱ. 이론적 고찰

1. 생물학적 질소 제거 이론

질소는 폐수에서 여러 가지 형태로 존재하며 폐수처리시 다양하게 변환된다. 이러한 변환은 암모니아성 질소(NH_4-N)으로부터 폐수내에서 쉽게 제거되는 생성물로 전환된다. 이러한 변환은 암모니아성 질소(NH_4-N)으로부터 폐수내에서 쉽게 제거되는 생성물로 전환된다. 질소제거를 위한 두 가지 중요한 기작은 동화(assimilation)와 질산화-탈질화이다. 질소는 영양소이 때문에 처리공정내의 미생물은 암모니아성 질소(NH_4-N)을 흡수(동화)하고 이를 세포로 만든다. 이 암모니아성질소(NH_4-N)의 일부분은 미생물의 죽음과 용균작용에 의하여 폐수내로 되돌아간다. 질산화-탈질화에서 질소의 제거는 두 과정에 의하여 이루어진다. 첫 번째 질산화 단계에서 암모니아는 질산염(nitrate)로 변환됨에 따라 감소된다. 그러나 질소는 단순히 형태만 변하고 제거되지는 않는다. 두 번째 탈질화 단계에서 질산염은 가스 형태로 전환되어 제거된다.

1) 질산화 반응

질산화(nitrification)반응은 암모니아성 질소(NH_4-N)가 호기성조건에서 화학합성 독립영양균(Chemoautotrophics)에 속하는 질산화미생물에 의하여 아질산성 질소(NO_2-N)와 질산성 질소(NO_3-N)로 산화되는 과정으로 알려져 있다. 암모니아성 질소 산화에 관여하는 미생물은 일반적으로 *Nitrosomonas*와 Nitrococus로 알려져 있으며, 아질산성 질소의 산화에는 Nitrobacter와 Nitrosocyshics가 관여하는 것으로 보고되어 있다. 생물학적 암모니아 산화반응은 hydroxylamine(NH_2OH)의 생성과 아직도 정확히 규명되지 않은 불안정한 중간물질을 포함하는 복잡한 반응으로서 초기 산화반응에서

hydroxylamine이 생성되기까지 에너지 방출은 없으며, 식(2-1)에 제시된 바와 같이 NH_2OH가 NO_2^-로 산화되는 과정은 cytochrome계를 포함하는 semiclical 공정이 요구되며, 이때 비로소 아질산성 질소(NO_2-N)가 생성된다[6)7)8)].

$$NH_2OH + O_2 \rightarrow H_2 + NO_2^- + H_2O + Energy \qquad (2\text{-}1)$$

아질산성 질소(NO_2-N)의 산화과정에서는 어떠한 중간물질도 생성되지 않는다. 이 반응에서 질소원자는 수중에서 질산성 질소로 되면서 전자수용체(electronac cepter)역활을 하게 된다[9)].

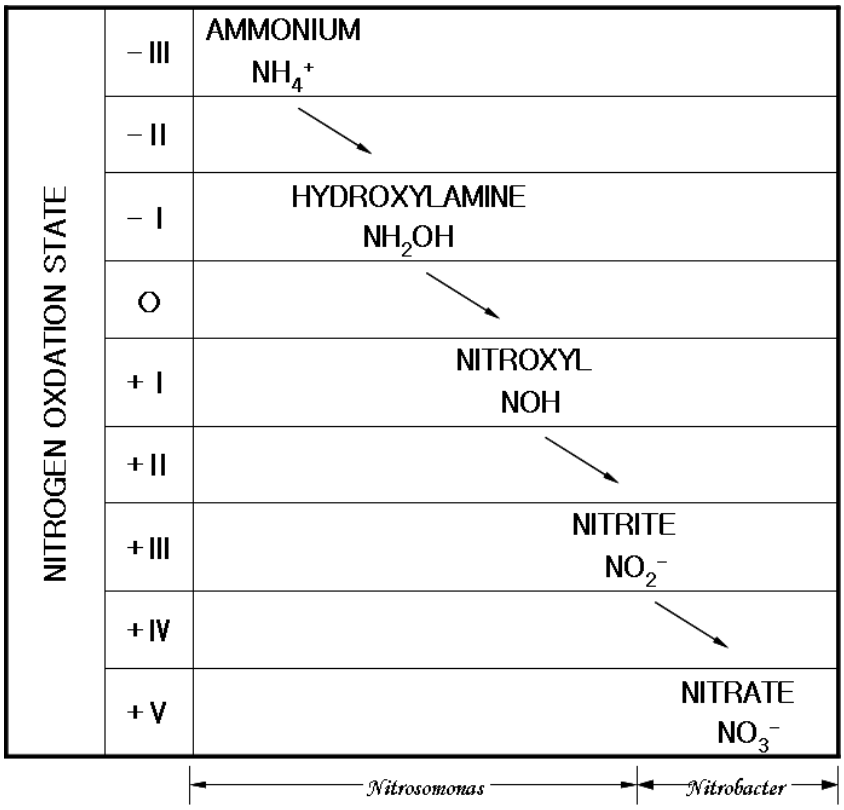

Fig. 1. Oxidation of nitrogen species during nitrification.

Fig. 1은 질산화 과정이 산화상태의 변화함수로서 연속된 천이과정을 나타내었는데, 암모늄이온에서 아질산이온까지의 산화과정 중에서는 중간생성물인 hydroxylamine과 Hypothetical nitroxyl 형태가 있다고 믿어지며, 질산화의 최종 생성물은 질산성 질소이다[10].

2) 질산화 영향인자

가) 용존산소

DO 농도는 생물학적 처리에서 질산화균 성장률과 질산화율에 큰 영향을 끼치는 주요 영향 인자이다. Monod에 의해 제안된 식(2-2)은 성장 제한기질을 고려한 DO 농도로 많은 모델에 적용되어 왔다. Monod 식에 의하면 *Nitrosomonas* 비성장 속도 μ_N은 DO 농도에 따라 다음과 같이 주어진다.

$$\mu_N = \overline{\mu}_N \frac{DO}{K_{O2} + DO} \qquad (2\text{-}2)$$

여기서,

μ_N : *Nitrosomonas* 비성장 속도, day^{-1}

$\overline{\mu}_N$: *Nitrosomonas* 최대 비성장 속도, day^{-1}

DO : 용존 산소 농도, mg/L

K_{O2} : 산소 반포화 상수, mg/L

식 (2-2)에서 K_{O2}의 값이 비 특정화된 온도에서 1.3 mg/L, 15 ℃에서 0.15 mg/L, 25 ℃에서 0.42 mg/L로 보고되었다. DO 농도는 질산화균의 최대 비성장율에 영향을 주는 것으로 알려져 있고 특정 조건하에서 수중의 DO 농도가 0.5 mg/L 정도인 경우에도 완전한 질산화가 이루어질 수 있다고 보고 되

고 있다. 실험실 규모실험에서 *Nitrosomonas*는 1.0 mg/L 이상에서는 저해를 받지 않으며, *Nitrobacter*는 2.0 mg/L 이상에서 저해를 받지 않는다는 보고도 있다[27]. U.S. EPA[28]에 따르면 질산화에 필요한 적정 용존산소범위는 고형물체류시간, 물질 전단율 및 미생물 floc내 확산저항에 따라 달라지긴 하지만, 0.5~ 2.5 mg/L로 보고되고 있다. 용존산소는 질산화 미생물의 성장에 대단히 중요한 요소로 순수배양 실험에서 질산화반응의 경계농도는 0.2 mg/L로 보고 되고 있다[27].

나) 온도

질산화는 온도에 의해 영향을 크게 받는다. Nitrifier의 성장에 있어서 최적온도는 *Nitrosomonas*에 대해 30~36 ℃, *Nitrobactor*에 대해서는 28 ℃로 알려져 있다[11]. Nitrifier들의 성장은 보통 4 ~ 50 ℃에서 일어나고, 4 ℃ 이하 로 45 ℃ 이상에서는 성장이 거의 일어나지 않는다고 했다. 또한 15 ℃ 이하에서는 질산화율이 급격히 감소한다.

다) pH

질산화 과정에서 암모니아의 산화에 의해서 알칼리도가 소모되고 이산화탄소의 생성으로 pH가 감쇠된다. 질산화 과정중에 HCO_3^-농도가 감소하면서 수중에 탄산(H_2CO_3)이 생성되어 pH는 감소하게 되지만 포기 공정으로 수중의 이산화탄소가 대기로 배출되어 다시 pH가 상승할 수 있다. 알칼리도 소모량을 $CaCO_3$로 환산하면 암모니아성 질소 1 mg 당 7.14 mg의 알칼리도가 소모되는 것으로 계산되나 일반 공학적인 계산에서는 7 mg을 사용한다[12].

라) 알칼리도

질산화가 일어날 때 알칼리도가 소비되는데(Table1), 세포합성이 무시되었을 때 산화된 암모니아성 질소 1 mg 당 알칼리도 소비는 $CaCO_3$로서 7.14 mg이다.

Table 1. Relationships for oxidation and growth in nitrification reaction on in relationship to the carbonic acid system

Reaction	Equation
Oxidation - Nitrosomonas	$NH_4^+ + 1.5O_2 + 2HCO_3^- \rightarrow 2H_2CO_3 + H_2O + NO_2^-$
Oxidation - Ntrobacter	$NO_2^- + 0.5O_2 \rightarrow NO_3$
Oxidation - Overall	$NH_4^+ + 2O_2 + 2HCO_3^- \rightarrow NO_3^- + 2HCO_3 + H_2O$
Synthesis - Nitrosomonas	$13NH_4^+ + 23HCO_3^- \rightarrow 10NO_2^- + 3C_5H_7NO_2 + 19H_2O + 8H_2CO_3$
Synthesis - Nitrobacter	$NH_4^+ + 10NO_2^- + 4H_2CO_3 + HCO_3^- \rightarrow 10NO_3^- + C_5H_7NO_2 + 3H_2O$

마) 방해물질

질산화 억제인자로는 중금속이나 일부의 유기물질 등을 들 수 있으며, 이들은 질산화 균에 독성을 나타낸다. 이와 같은 독성효과는 질산화균의 성장을 미치는 동력학적 관점에서 양적으로 나타내지는 못하지만, 생물학적 관점에서 독성을 나타내는 작용이 알려지고 있다. 한편, 질산화균은 높은 pH인

7.5~ 9.0에서 10 ~ 20 mg/L의 중금속 농도에 견딜 수 있다고 알려져 있다. Fig. 2는 Painter(1970)에 의해 검토된 것으로 질산화균에 독성을 나타내는 물질을 요약한 것이다[13]. 일시적인 산업폐수의 유입이나 고농도 암모니아 등의 유입으로 인해 질산화 균에 악영향을 줄 수도 있다. 이러한 경우에는 안전처리율을 고려하여 고농도 폐수를 희석 처리해 주어야 한다.

Table 2. Neutron poison of affecting nitrifying bacteria

Organics	Inorganics
Thiourea	Zn
Allyl-Thiourea	OCN^{-1}
8-Hydroxyquinoline	CLO_4^{-1}
Salicyladoxine	Cu
Histidine	Hg
Amino acids	Cr
Mercaptobenzthiazole	Ni
Perchloroethylene	Ag
Trichloroethylene	
Abietic acid	

2. 생물학적 탈질화

질산화 작용은 물에서 용존 산소를 소모하게 된다. 따라서 폐수가 유입되는 물, 특히 그 물이 식수원으로 이용될 경우에는 폐수를 방류하기전에 질산염이 반드시 제거 되어야 한다. 생물학적 탈질(denitrification)이란 미생물이 산소가 없는 상태에서 호흡을 하기 위하여 최종 전자 수용체(terminal electron acceptor)로서 작용하는 질산성 질소를 환원시키는 것을 말하며, 무산소(anoxic)상태에서 일어나기 때문에 혐기성 호흡이라고 한다[14].

1) 탈질화 반응

탈질화 과정은 2단계를 거치는데, 첫 단계가 질산성 질소에서 아질산성 질소로의 환원과정[15]이고, 두 번째 단계가 질소가스까지 두 개의 중간 생성물을 거쳐 일어난다. 보통 이 두 단계를 Nitrate dissimilation 또는 respirationd 이라 하는데, 미생물(*Micrococcus, Psuedomonas, Denitrobacillus, Spirillum, Achromobacter*)들은 무산소 조건하에서 최종 전자수용체로서 질산성 질소를 사용한다. 한편, 산화질소를 암모니아까지 환원시키는 전 과정을 Nitrate assimilation이라고 하는데 여기에 관여하는 미생물은 *Neurospora, Achromobacter Aspergillus*[17], *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Azotobacter* 가 있다.

2) 탈질화 영향인자

가) 온도

탈질 반응은 5 ~ 25 ℃에서 주로 진행되고 5 ℃ 이하에서는 급격히 감소한다. 5 ~ 25 ℃ 범위에서 탈질율은 온도가 10 ℃ 증가할 때 대략 2배정도 빨라지는 것으로 보고되고 있다. 3 ~ 30 ℃ 범위에서 탈질 반응은 식 2-3 Arrhenius 온도 관계를 따른다[14].

$$K = Ae^{-E/RT} \qquad (2\text{-}3)$$

여기서, K : 속도상수 (mol/L)

A : 상수

E : 활성화 에너지(cal/mol)

R : 기체상수 (0.082L · atm / mol · K)

T : 절대온도

나) pH 및 알칼리도

탈질소화 반응은 알칼리도가 생성되는 반응이다. Table 3은 질산성 질소가 질소 가스로 탈질소가 이루어질 때 탄산(Carbonic acid)은 중탄산(Bicarbonate)으로 전환된다. 이론적으로 알칼리도의 생성량은 3.57 mg(as $CaCO_3$)/mg $N_{reduced}$인데, 실제로는 2.3 ~ 3.0 mg(as $CaCO_3$)/mg $N_{reduced}$ 범위에 있다[19]. 알칼리도의 생성은 시스템의 pH를 높이거나, 질산화와 복합된 시스템인 경우는 알칼리도 손실을 어느 정도 상쇄시킬 수 있다. 탈질소화의 최적 pH는 존재하는 bacteria의 종류나 폐수 내 성분에 따라 달라지지만

보통 pH 7 ~ 8사이에서 결정된다. 질산화 처리 공정이 탈질소화의 최적 pH에 가깝게 운전되므로 특별한 조정은 필요치 않다.

Table 3. Relationships for nitrate dissimilation and growth in denitrification reactions

Reaction	Equation
Nitrogen dissimilation Nitrate to nitrite	$NO_3^- + 0.33CH_3OH$ $= NO_2^- + 0.33H_2O + 0.33H_2CO_3$
Nitrite to nitrogen gas	$NO_2^- + 0.5H_2CO_3$ $= 0.5N_2 + HCO_3^- + H_2O$
Nitrate to nitrogen gas	$NO_3^- + 0.833CH_3OH + 0.167H_2CO_3$ $= 0.5N_2 + 1.33H_2O + HCO_3^-$
Synthesis - denitrifiers	$14CH_3OH + 13NO_3^- + 4H_2CO_3^-$ $= 3C_5H_7O_2N + 20H_2O + 3HCO_3^-$

다) 용존산소

탈질 미생물들은 용존산소가 충분치 않은 상태에서 NO_3^--N나 NO_2^--N를 최종전자수용체로 이용하지만 용존산소가 존재하는 경우 다른 무기성수용체보다 낮은 환원전위를 갖는 산소를 선호하게 된다[20].
즉, 호기성 호흡으로 더 많은 ATP가 만들어질 수 있고 무산소상태보다 호기상태에서 탈질 미생물 생성이 훨씬 많아진다. 이것이 탈질화 반응이 산소의 부재 시에만 일어나는 이유이다[21].

Table 4. Comparison of energy yields of nitrate dissimilation vs oxygen respiration for glucose

Reaction	Energy Yield per mole glucose kilocalories
Nitrate Dissimilation $5C_6H_{12}O_6 + 24KNO_3 \rightarrow$ $30CO_2 + 18H_2O + 24KOH + 12N_2$	570Kcal
Oxygen Respiration $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$	686Kcal

DO 농도가 낮은 경우에 탈질에 관여하는 효소가 합성된다[22].

탈질균의 순수 배양 실험을 통하여 탈질을 저해하는 용존산소의 농도를 0.2 mg/L 이상으로 보고 있으며 탈질을 제한하는 산소 농도가 0.3 mg/L ~ 1.5 mg/L라고 제시하였다[21]. 산소는 NO_2^--N 환원 미생물의 성장에 저해작용을 일으키는데, 산소가 NO_3^--N의 환원 미생물보다는 NO_2^--N 환원 미생물에 더 큰 저해작용을 일으킨다는 것이 밝혀졌다[24]. 5% 포화농도의 DO가 N_2O의 발생율을 감소시킨다고 하였다[25]. 또한 NO_2^--N 환원 미생물은 13% 포화농도에 민감하나 NO_3^--N 환원 미생물은 산소에 덜 민감하여 13% 포화농도보다 큰 농도에서 저해작용을 받는다고 하였다.

3. 생물학적 질소제거의 새로운 연구 동향

환경 내 질소 화합물의 배출량 증가에 따라 이들의 처리에 관심이 고조되고 있는 가운데 기존의 활성 슬러지 처리 공법뿐만 아니라 질소 제거를 위한 많은 연구와 기술 개발이 시도되어 왔다. 특히 미생물에 의한 새로운 질소 전환 및 새로운 반응기의 배치와 조합에 연구의 초점이 맞춰지고 있다. 최근 토양 및 수계 내 질소제거를 위한 새로운 미생물학적 가능성들이 보고 되고 있다. 이러한 반응의 예로는 종속영양 질산화(heterotrophic nitrification) 및 호기적 탈질(aerobic denitrification), 혐기적 ammonium 산화(anaerobic ammonium oxidization), 그리고 부분 질산화를 통한 탈질 등이 있다[29]. 또한 기존의 활성 슬러지 공법을 이용한 질소제거 공정 외에 미생물 고정화 및 생물여과 반응기 시스템에서 nitrite 경로에 의한 에너지와 탄소원의 절약에 대한 연구도 활발히 진행 중에 있다. 결국 질소제거의 새로운 전환에 기초한 연구들의 세계적 추세는 단순하고, 경제적인 개념의 효율적인 질소제거 공법 개발에 초점을 맞추고 있다. 이에 미생물학적 측면과 반응기 시스템에 대한 현재의 기술들을 알아보고자 한다.

1) 호기적 탈질

일반적으로 호기적 탈질 반응은 호기성 상태에서 floc, 생물막, 토양, 또는 완전한 혼합이 이루어지지 않은 활성 슬러지에 용존산소가 미생물 cluster 안쪽으로 확산되는데 제한을 받아 무산소 상태로 되기 때문에 일어난다. 이러한 무산소 상태에서 전통적인 탈질화 반응이 일어날 수 있다. floc 크기가 150 ㎛ 범위면 호기성 활성 슬러지 공정에서 탈질이 일어나기에 충분한 무산소 상태를 제공하는 것으로 알려졌다. 또한 생물막 aggregates의 경우 직경이 100 ㎛보다 클 경우 같은 현상이 일어나는 것으로 보고되었다[30].

호기적 탈질 미생물들은 토양 내 많은 수가 분포하는 것으로 알려졌다. 비록 이들의 비활성(specific activity)이 항상 높은 것은 아니지만, 질소 순환에 있어 화합물의 전환에 상당한 기여를 하는데 충분한 작용을 하는 것으로 알려졌다[29].

2) 독립 영양 미생물에 의한 혐기성 ammonium 산화

최근 질산화 미생물이 혐기적 대사를 수행할 수 있음이 밝혀졌다. Bock[35] 등에 의해 *Nitrosomonas eutropha*의 혐기적 대사 작용에 관한 연구가 자세히 밝혀졌으며, 최대 혐기적 ammonium 산화율은 1.3 × 10^{-6} mol NH_4^+/kg protein · s로 나타났다. Ammonium으로부터 산화된 nitite(또는 NO)의 40 ~ 60%가 질소가스로 탈질 되었으며, 중간 산물로 N_2O 및 hydroxylamine이 관찰되었다. *Nitrosomonas eutropha*는 또한 NO_2의 존재 시 용존산소 농도가 3 ~ 4 mg/L일때 탈질 능력을 가지는 것으로 보고 되었다[36]. 이들의 실험에서 생성된 nitrite의 약 50%가 호기적 상태에서 질소 가스로 탈질 되었다. 많은 *Nitrosomonas*의 혼합배양과 순수배양에 있어 산소가 제한된 상태에서 ammonia가 nitrite와 함께 nitrous oxide와 질소 가스로 전환되는 것이 관찰되었다.

3) 혐기성 암모늄 산화

일반적으로 암모늄의 산화는 ammonium mono-oxygenase의 효소 반응에 의해서 산소의 존재 하에 진행된다. 그러나 이론적으로 암모늄은 탈질반응에 전자공여체로 이용될 수 있으며, 이 반응의 free energy는 질산화 반응과 비슷하다[32]. 최근 메탄 생성 반응기의 유출수를 처리하는 혐기성 유동층 탈질 반응기에서 암모늄의 제거가 관찰되었다[33]. 이러한 혐기성 암모늄 산화는 미

래의 폐수처리 시스템에서 매우 광범위하게 쓰일 수 있다[34]. 이러한 이유는 하나의 반응기에서 질산화와 탈질화를 동시에 수행할 수 있어 반응기를 축소할 수 있고 암모늄을 전자공여체로 이용하여 아질산성 질소나 질산성 질소와 직접적으로 반응하여 질소가스를 생성하는 반응이므로 탈질에 필요한 유기탄소원을 별도로 공급해줄 필요가 없기 때문이다. 또한 산호의 소비가 거의 없는 반응이므로 동력비의 절감으로 운전비를 줄일 수 있다.

4. 동시 질산화 및 탈질화

동시 질산화-탈질은 질산화와 탈질을 단일 반응조에서 동일한 시간에 수행하는 것으로, DO 농도가 충분히 낮으면(전형적으로 1 mg/L 이하) 탈질은 질산화 및 BOD 산화와 같은 호기성 반응과 동시에 일어날 수 있다.

동시 질산화와 탈질이 가능한 이유는 첫째, DO 농도가 1 mg/L 이상인 경우에만 여러 종류의 질소 환원효소가 억제되고 둘째, 질소 환원효소는 DO 농도가 1 mg/L 이하이면 크게 저해를 받지 않기 때문이다. 그리고 DO 농도는 처리 시스템에서 일반적으로 생성되는 미생물 군집체 내부에서는 높지 않다. 그러므로 전자 공여체가 침투할 수 있으면 생물막 내부에서는 탈질이 상당히 빠르게 일어날 수 있다[37]. Langeland[38]의 연구에 의하면 동시 질산화-탈질 공정에 의하여 100% 질소제가가 가능하다고 하였으며, 운영중인 활성슬러지 공정을 질소제거를 위한 공정으로 전환하기 위하여 실제 처리장에 적용되기도 하였다[39]. 그러나 현재까지 동시 질산화-탈질의 정확한 기작이 구명되지 못하여 동시 질산화-탈질을 적용할 때 주요 문제점인 미생물 체류시간, 수리학적 체류시간, DO 농도 등에 대한 연구가 진행되고 있다.

Ⅲ. 실험방법

1. 실험재료

1) 균주

본 실험에 사용한 균주는 김 등[5)]이 토양에서 분리한 *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3이다.

Table 5. Composition of synthetic wastewater

Components	Concentration	Remarks
Glucos	30 g	Carbon Source
NH_4NO_3 NH_4Cl $NaNO_3$	1 g 1.34 g 2.13 g	Nitrogen Source
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ KH_2PO_4	15 g 3 g	Phosphorus Source
NaCl $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.5 g 0.2 g 27.03 mg 2 mg	Minerals

2) 합성배지

균주 배양에 사용한 분해배지의 조성은 Table 5와 같으며, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$와 NH_4NO_3는 별도로 조제하여 autoclave로 살균한 후 사용하였다.

2. 실험방법

1) Aerobic culture

실험은 500 mL 삼각플라스크에 150 mL의 배지를 넣고 *P. aeruginosa* 전배양액 1%를 접종하여 30 ℃에서 140 rpm으로 진탕 배양하였다. C/N비에 따른 NH_4^+와 NO_3^-의 제거효율을 확인하기위한 실험은 glucose의 농도를 조절하면서 C/N비 2.5 ~ 34.3이 되도록 하였다. 질소원의 농도에 따른 제거효율을 알아보기 위한 실험에서는 배지 중 NH_4NO_3의 농도를 50 mg/L ~ 700 ㎎/L이 되도록 조절하였고(C/N비 : 5), 탄소원에 따른 제거효율을 확인하기 위한 실험에서는 배지중의 glucose대신에 methanol과 acetate를 사용하였다(C/N비 : 5). 진탕배양의 speed에 따른 제거효율 실험에서는 shaking incubator의 speed를 60 rpm, 140 rpm 및 200 rpm으로 하였으며, *P. aeruginosa*의초기 cell농도에 따른 실험에서는 배양액을 0.5%, 1%, 2% 및 4%가 되도록 접종하였다.

2) Stationary culture

실험은 500 mL 삼각플라스크에 150 mL의 배지를 넣고 *P. aeruginosa* 전배양액 1%를 접종하여 30 ℃에서 정치 배양하였다. 질소원으로는 NH_4NO_3를 사용하였고, 농도는 350 mg/L로 하였다(C/N : 5).

3. 분석방법

실험에 사용된 분석 항목 및 분석 방법을 Table 6에 나타내었다. 실험 및 분석 방법은 수질오염공정시험법[26]과 DNS method[58]에 의거하여 분석하였다.

Table 6. Analytical methods and parameters

Items	Analytical methods
pH	pH meter, TOA HM-20S
NH_4^+-N	Indophenol method
NO_2^--N	Diazoha method
NO_3^--N	UV Spectrophotometric method
Optical density	UV Spectrophotometer (660nm)
Glucose	DNS method

Ⅳ. 결과 및 고찰

1. NH_4-N 제거

1) 초기 질소농도에 따른 변화

본 실험에서는 NH_4Cl을 질소원으로 하였을 때 *Pseudomonas aeruginosa*균에 의한 초기 질소농도에 따른 제거 능력을 조사하고자 실험을 수행 하였고, 그 결과는 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다.

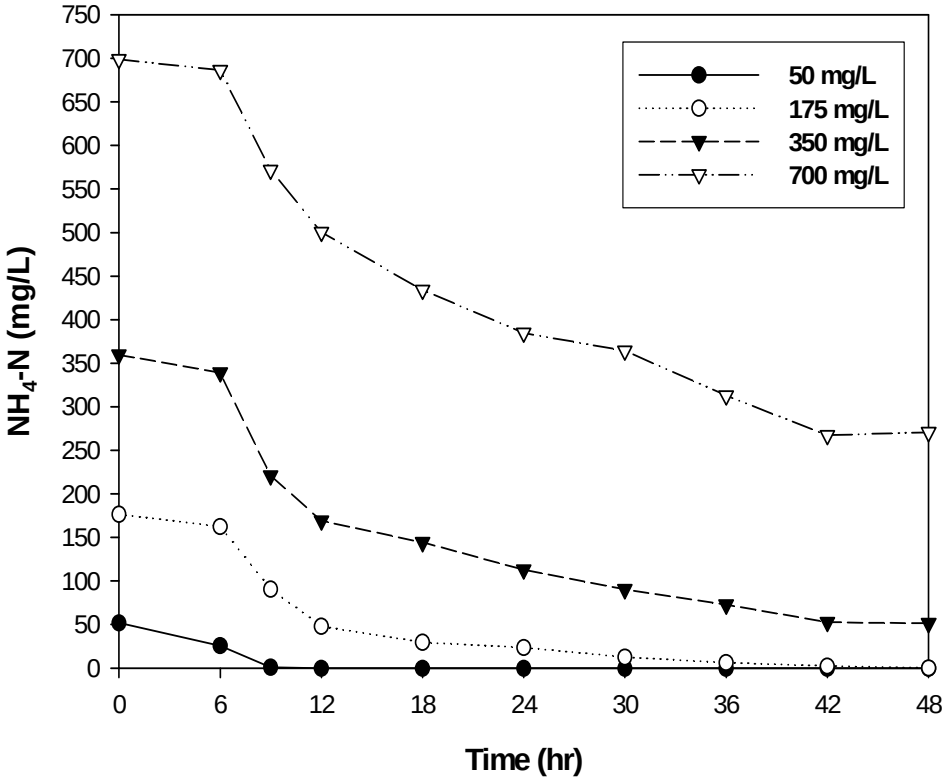

Fig. 2. Effects of different nitrogen concentrations on NH_4-N removal.

배지 중 NH_4-N의 농도를 50 mg/L ~ 700 mg/L이 되도록 조절하였다. 이때 C/N비는 5로 실험하였다. Fig. 2는 NH_4-N의 농도 175 mg/L이하에서는 완전히 제거됨을 알 수 있었고, 350 mg/L와 700 mg/L에서는 각각 85%와 65%만 제거 되었다. Fig. 3에서 cell growth는 NH_4-N의 농도에 비례하여 증가함을 알 수 있었다. 하지만 NH_4-N의 농도가 350 mg/L이상이 되면 cell growth는 비슷하였다.

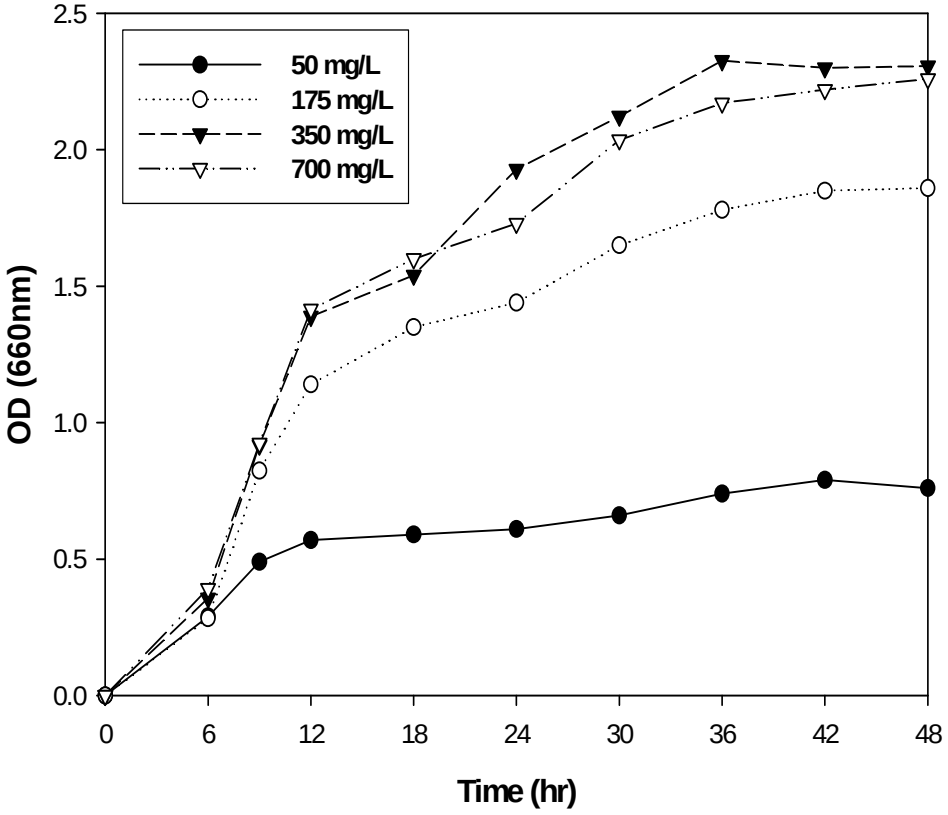

Fig. 3. Effects of different nitrogen concentrations on cell growth.

2) 탄소원 변화

본 실험에서는 탄소원 변화에 따른 *Pseudomonas aeruginosa*균의 최적 탄소원을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 Fig. 5에 나타내었다. 탄소원으로는 Glucose(C/N비 : 5), Acetate(C/N비 : 5), 그리고 Methanol(C/N비 : 5)을 사용하였으며, 배지 중 NH_4-N의 농도는 175 mg/L로 하였다.

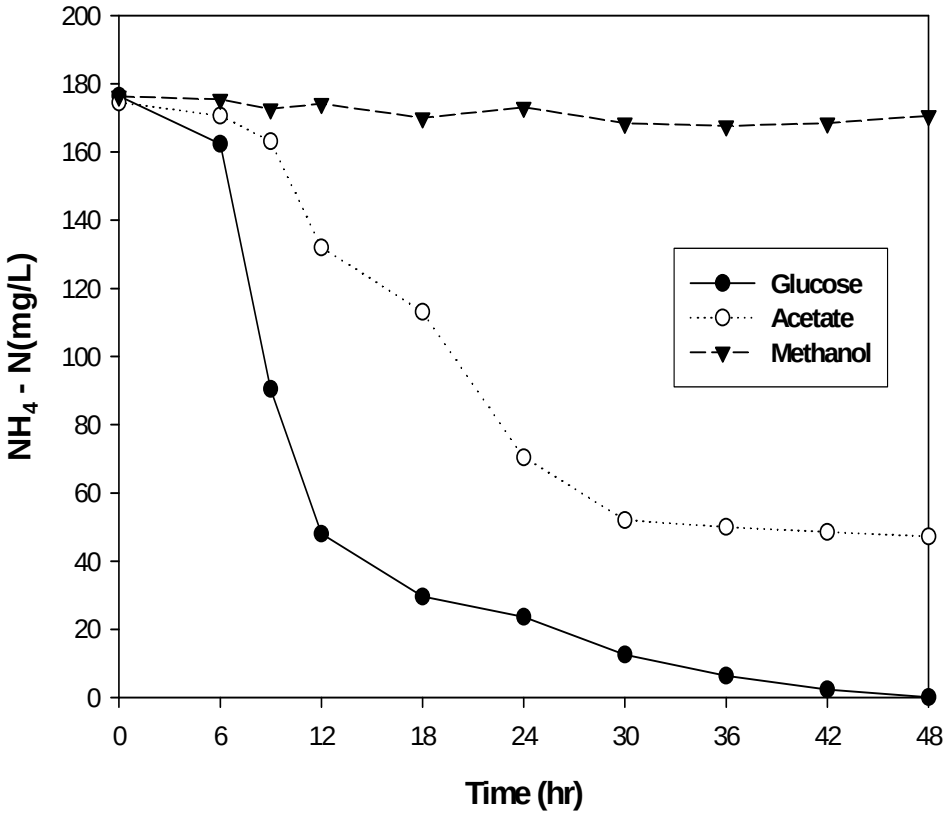

Fig. 4. Effects of different carbon sources on NH_4-N removal.

Fig. 4에서 Glucose는 48시간만에 완전히 제거가 되었고, Acetate는 73%가 제거 되었으며, Methanol은 전혀 제거가 되지 않았다. Fig. 5는 탄소원으로 Methanol을 첨가 하였을 경우는 최적 C/N 비율은 4.45 g COD/g NOx-N가 요구되는 것으로 알려져 있다[56]. 본 실험이 C/N의 비율이 5인데도 전혀 성장하지 않은 것으로 보아 탄소원으로 적합하지 않으며, *Pseudomonas aeruginosa*균의 최적 탄소원으로는 Glucose가 적합하였다.

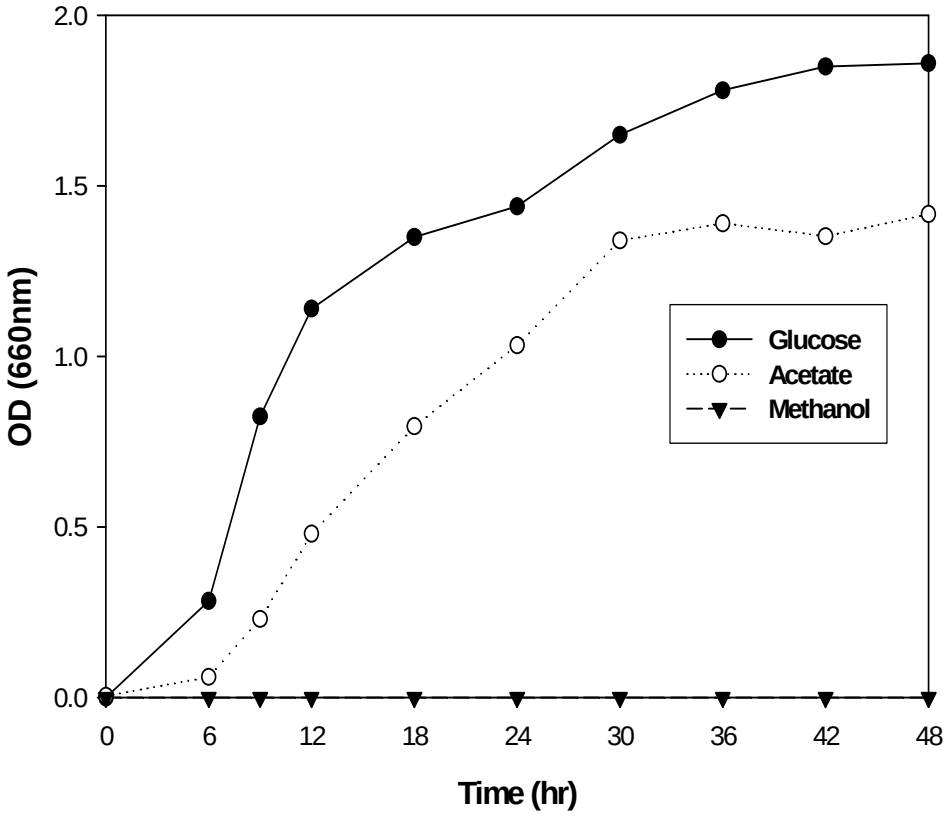

Fig. 5. Effects of different carbon sources on cell growth.

3) 초기 Cell농도에 따른 변화

본 실험에서는 실험초기의 접종 cell 농도에 따른 NH_4-N의 제거변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 6과 Fig. 7나타내었다. Fig. 6에서 접종하는 cell농도 0.5% ~ 4%의 변화에도 불구하고 제거시간에 큰 변화가 없이 42시간, 48시간만에 완전히 제거되었다. 한편 Fig. 7에서 cell growth는 초기 cell농도의 변화에도 불구하고 최종 cell 농도는 비슷한 값을 나타내었다. 따라서 NH_4-N 제거는 초기 cell농도에 영향을 받지 않는다고 사료된다.

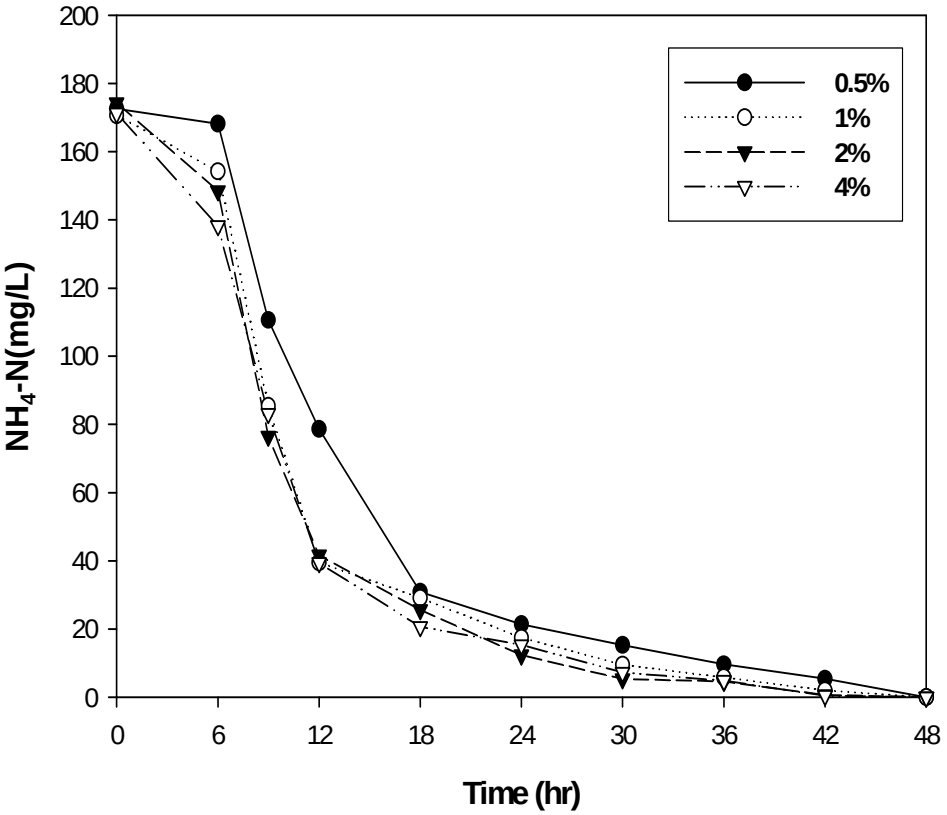

Fig. 6. Effects of different cell concentrations on NH_4-N removal.

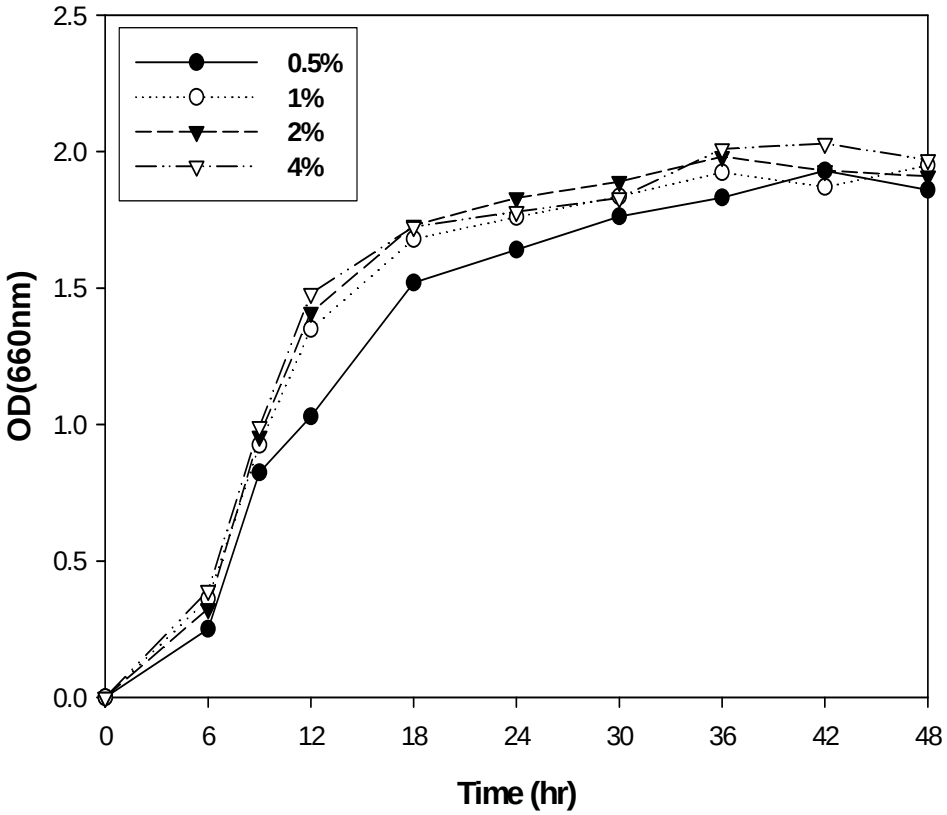

Fig. 7. Effects of different cell concentrations on cell growth.

4) NH_4-N 제거에 따른 NO_3-N 변화

본 실험에서는 NH_4Cl를 질소원으로 사용하여 NH_4-N 제거에 따른 NO_3-N 변화를 실험 하였으며, 그 결과는 Fig. 8에 나타내었다. Fig. 8에서 NH_4-N의 농도는 175 mg/L로 하였으며, 제거 시간은 48시간만에 완전히 제거 되었다. 하지만 NO_3-N은 전혀 생성 되지 않았다. 따라서 질산화 반응이 일어나지 않는 것을 알 수 있었다.

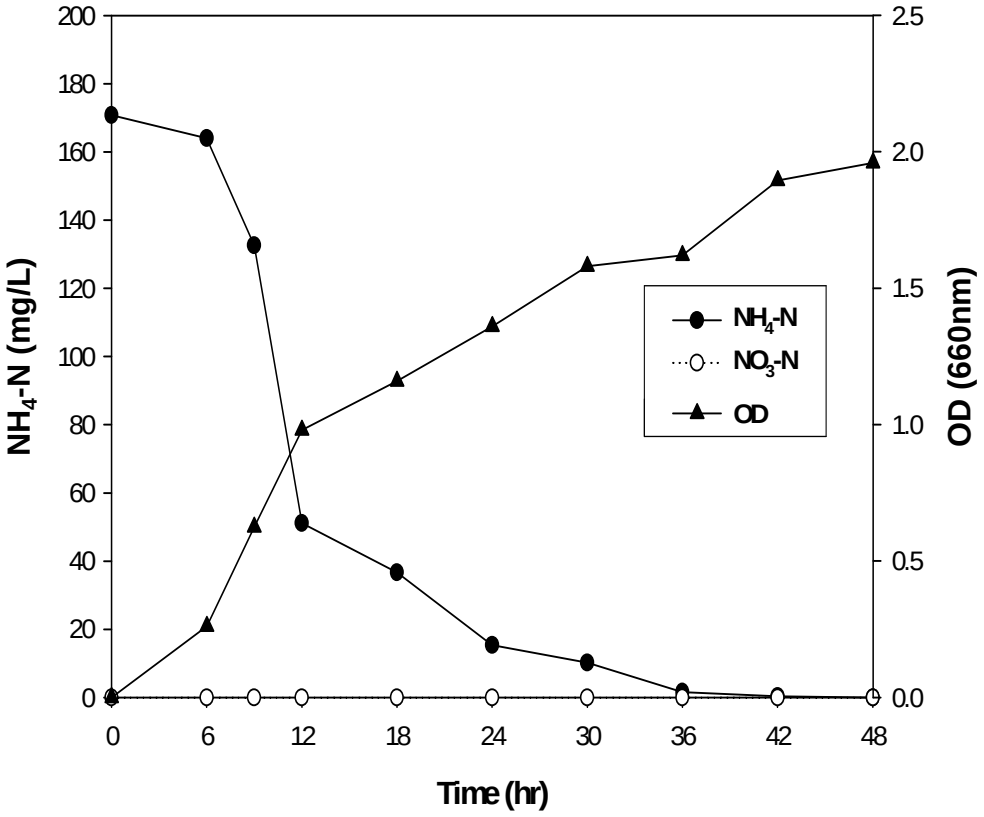

Fig. 8. Variation of NH_4-N, NO_3-N and cell growth.

2. NO_3-N 제거

1) 초기 질소농도에 따른 NO_3-N 제거

본 실험에서는 $NaNO_3$를 질소원으로 하였을 때 초기 질소 농도에 따른 제거 능력을 알아보고자 실험 하였으며, 그 결과는 Fig. 9과 Fig. 10에 나타내었다.

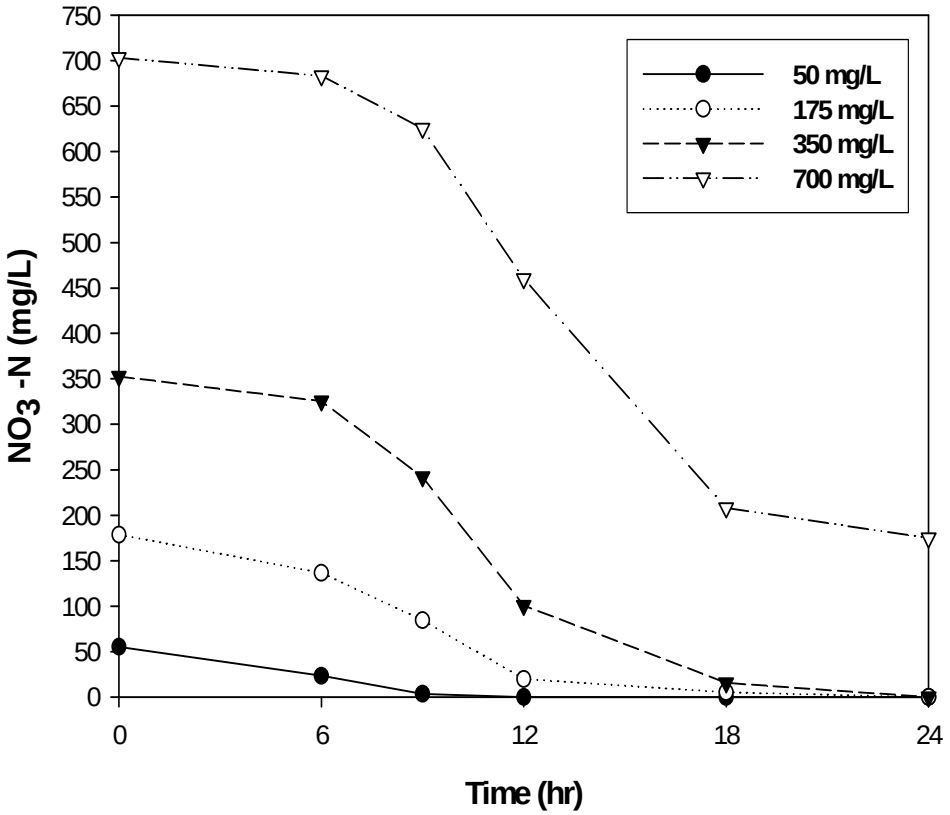

Fig. 9. Effects of different nitrogen concentrations on NO_3-N removal.

배지 중 NO_3-N의 농도를 50 mg/L ~ 700 mg/L이 되도록 조절하였다. 이때 C/N비는 5로 실험하였다. Fig. 9에서는 NO_3-N의 농도 350 mg/L이하에서는 완전히 제거됨을 알 수 있었고, 700 mg/L에서는 75%만 제거 되었다. 한편 Fig. 10에서 cell growth를 보면 질소 농도에 비례하여 Optical density 값이 증가됨을 알 수 있었다.

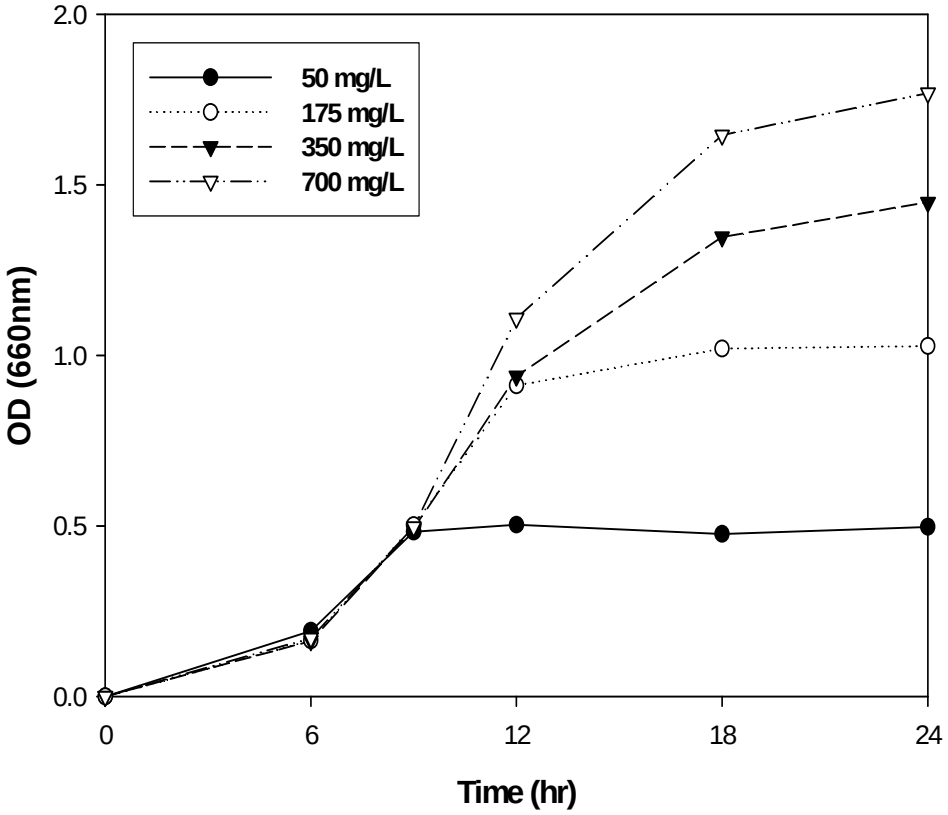

Fig. 10. Effects of different nitrogen concentrations on cell growth.

2) 탄소원 변화에 따른 NO_3-N 제거

본 실험에서는 탄소원 변화에 따른 NO_3-N제거 변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 11과 Fig. 12에 나타내었다. 탄소원으로 Glucose, Acetate, 및 Methanol을 사용 하였으며, NO_3-N 농도를 175 mg/L로 하였다. Fig. 11에서 Glucose와 Acetate는 24시간만에 완전히 제거 되었고, Methanol은 전혀 제거가 되지 않았다. Fig. 12은 탄소원으로 Methanol을 첨가 하였을 경우는 최적 C/N 비율은 4.45 g COD/g NOx-N가 요구되는 것으로 알려져 있다[56].

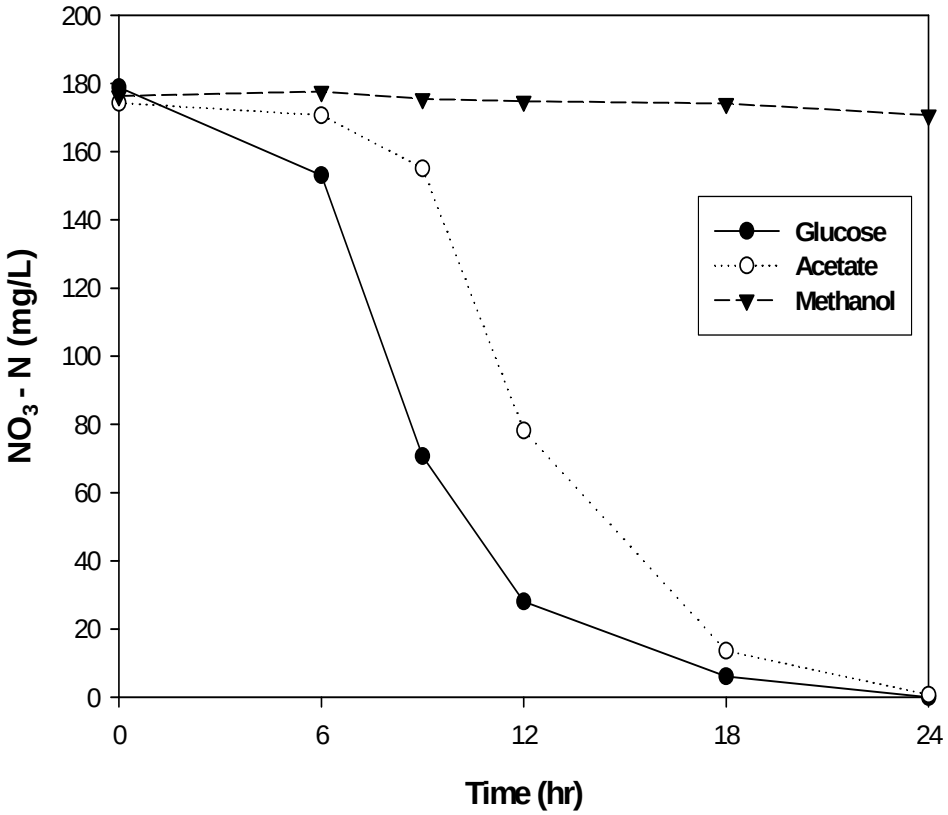

Fig. 11. Effects of different carbon sources on NO_3-N removal.

본 실험이 C/N의 비율이 5인데도 전혀 성장하지 않은 것으로 보아 탄소원으로 적합하지 않으며, 최적 탄소원으로는 Glucose와 Acetate가 적합하였다.

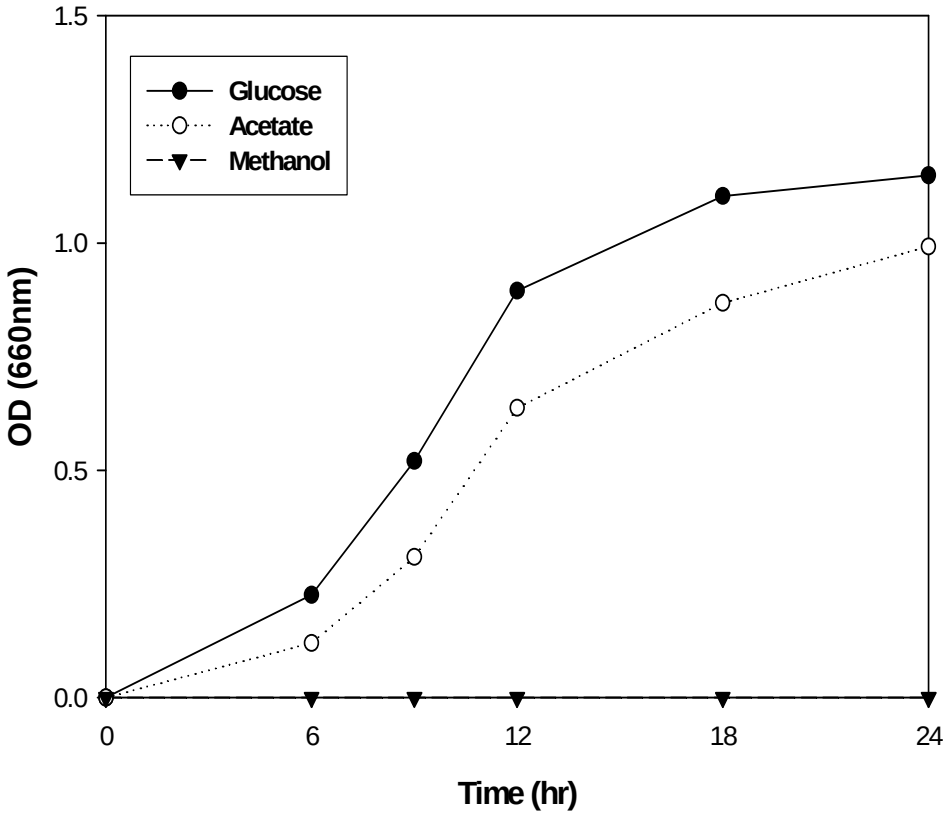

Fig. 12. Effects of different carbon sources on cell growth.

3) 초기 cell 농도에 따른 NO_3-N 제거

본 실험에서는 초기 Cell 농도에 따른 NO_3-N 제거 변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 13와 Fig. 14에 나타내었다. Fig. 13에서 초기 cell농도 2%와 4%를 접종하였을 때 약 12시간만에 제거되었으나, 0.5%를 접종하였을 때에는 24시간정도 소요되었다. 이와 같이 접종하는 cell농도가 많으면 NO_3-N제거시간이 단축되나 2%이상이면 NO_3-N이 제거되는 시간은 비슷하였다. Fig. 14에서 Optical density는 초기 cell농도가 많으면 성장 속도가 빠르지만 2% 이상이면 cell 농도는 비슷한 값을 나타내었다.

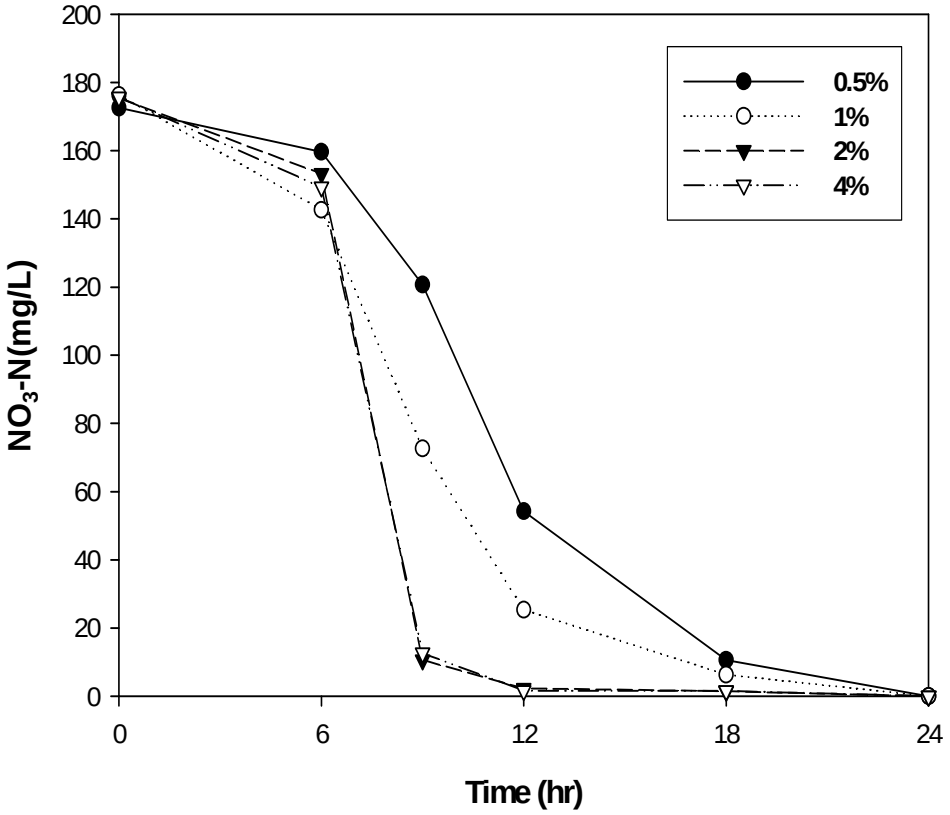

Fig. 13. Effects of different cell concentrations on NO_3-N removal.

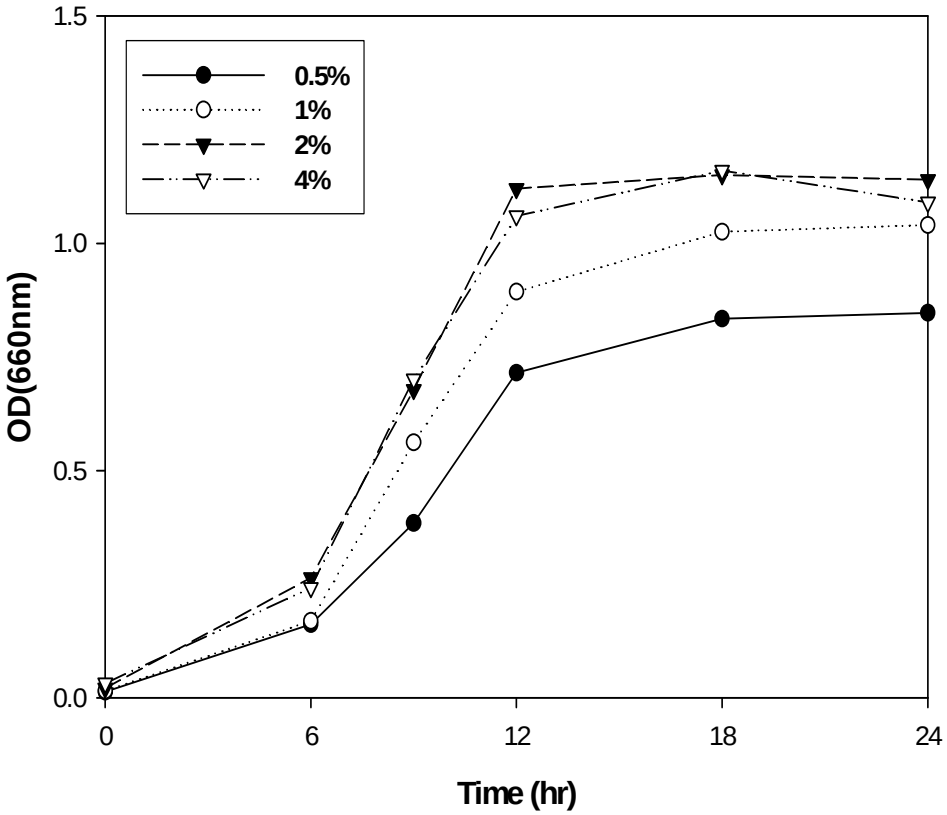

Fig. 14. Effects of different cell concentrations on cell growth.

3. NH_4-N과 NO_3-N의 동시제거

1) C/N비 변화

본 실험에서는 질소원으로 NH_4NO_3를 주입하였을 때 C/N비 변화에 따른 NH_4-N과 NO_3-N의 동시제거 실험을 하였으며, 그 결과는 Fig. 15와 Fig. 16에 나타내었다. Fig. 15에서 C/N비 5 ~ 34.3일 때 NH_4-N은 약 36시간, Fig. 16에서 NO_3-N는 24시간만에 완전히 제거되어 낮은 C/N비 5에서도 NH_4-N

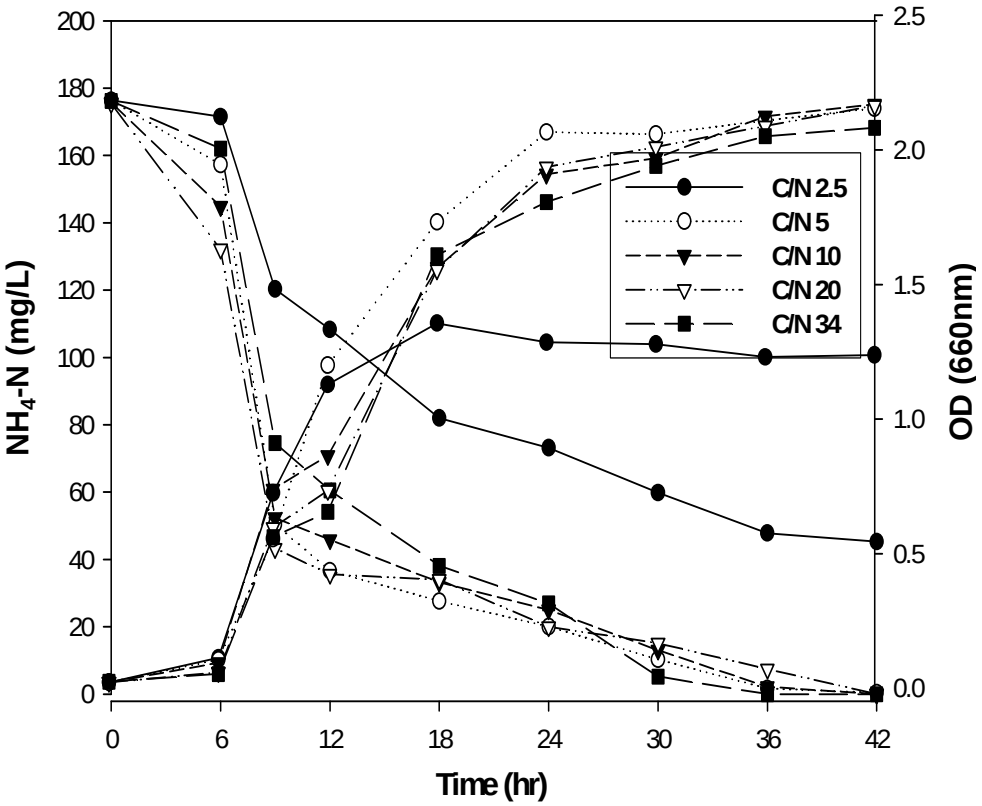

Fig. 15. Effects of C/N ratios on NH_4-N removal and cell growth.

와 NO_3-N의 동시제거가 가능함을 알 수 있었다. 그러나 C/N비 2.5인 경우 NH_4-N과 NO_3-N는 각각 73%와 76%만 제거되었다. Fig. 15에서 Optical density는 C/N비 2.5인 경우만 제외하고 비슷한 값을 나타내었다. 원래 이 *Pseudomonas aeruginosa*은 김 등[5]의 논문에서 C/N비 34.3에 정치 배양 시 동시제거 되었다. 하지만 제거 속도가 너무 느려 진탕배양을 한 결과 C/N비 5에서도 동시제거가 가능하였고 시간도 단축되었다. 따라서 *Pseudomonas aeruginosa*은 정치 배양보다 진탕배양 하는 것이 더 효과적이다.

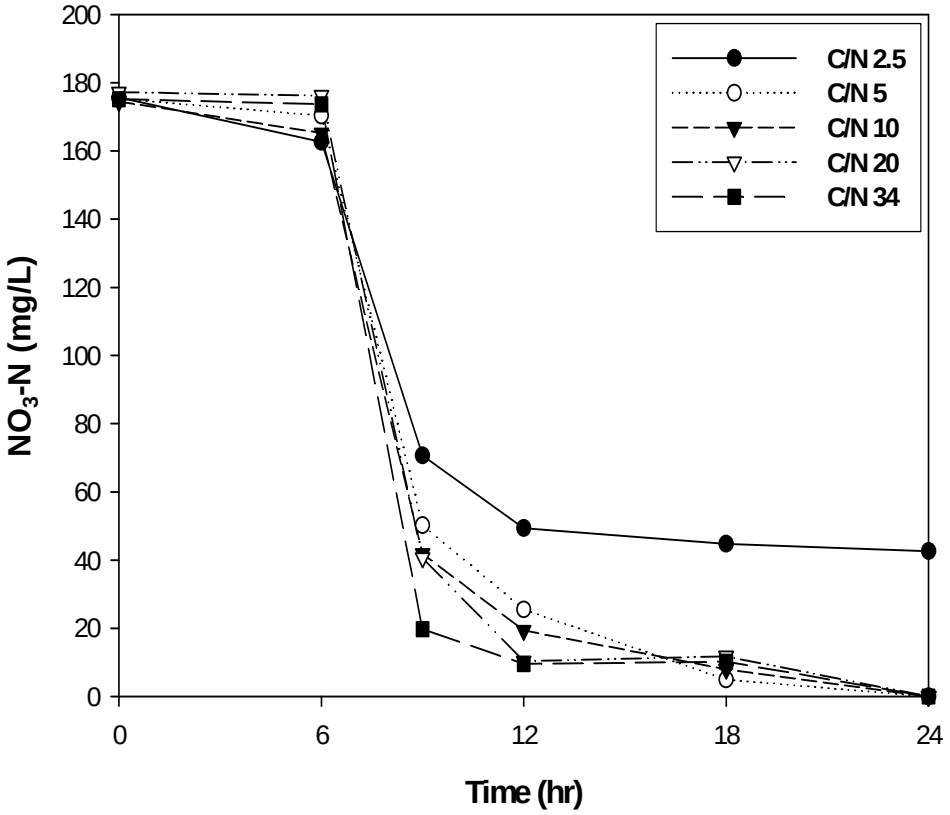

Fig. 16. Effects of C/N ratios on NO_3-N removal.

2) 탄소원 변화

본 실험에서는 탄소원에 따른 실험을 하였으며, 그 결과는 Fig. 17과 Fig. 18에 나타내었다. Fig. 17과 Fig. 18에서는 탄소원으로 Glucose를 사용하면 NH_4-N과 NO_3-N의 동시제거가 가능하나 Acetate를 탄소원으로 사용하는 경우에는 NO_3-N는 완전히 제거되지만 NH_4-N는 71%만 제거되었다.

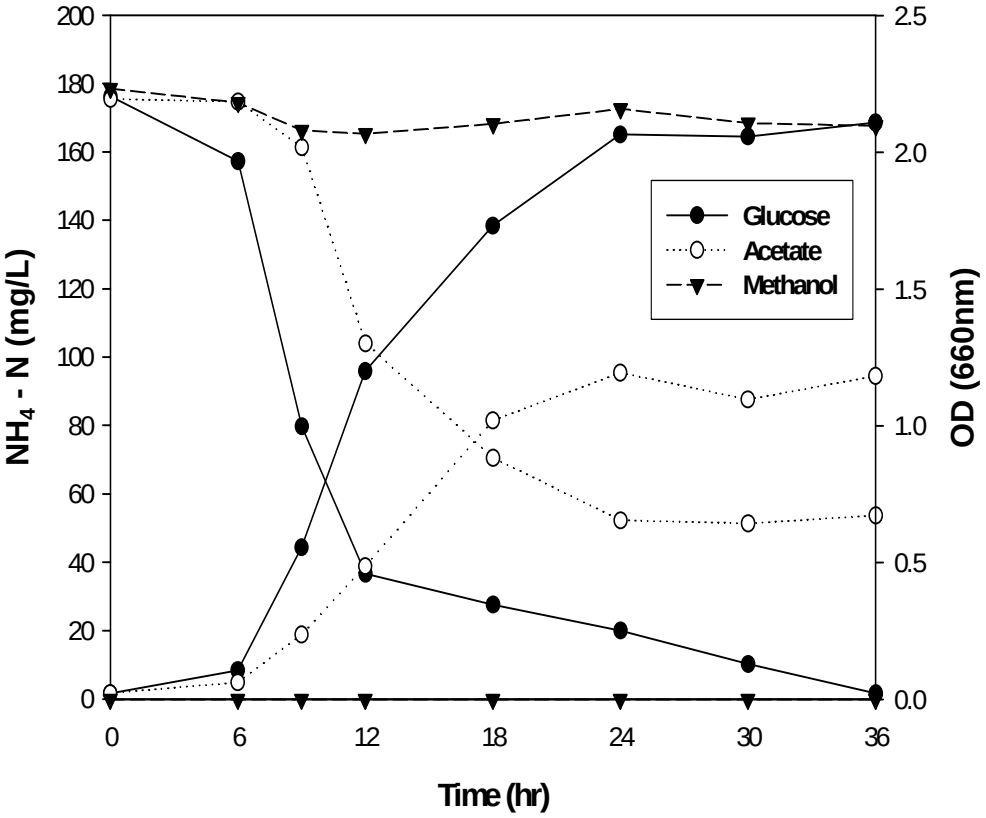

Fig. 17. Effects of different carbon sources on NH_4-N removal and cell growth.

또한 Methanol을 탄소원으로 사용하였을 때는 NH_4-N와 NO_3-N는 전혀 제거되지 않았다. Fig. 17에서 탄소원으로 Methanol을 첨가 하였을 경우는 최적 C/N 비율은 4.45 g COD/g NOx-N가 요구되는 것으로 알려져 있다[56]. 본 실험이 C/N의 비율이 5인데도 성장하지 않은 것으로 보아 탄소원으로 적합하지 않다는 것을 알게 되었고, NH_4-N과 NO_3-N를 동시에 제거하기 위해서는 탄소원으로 Glucose를 이용하는 것이 바람직하다.

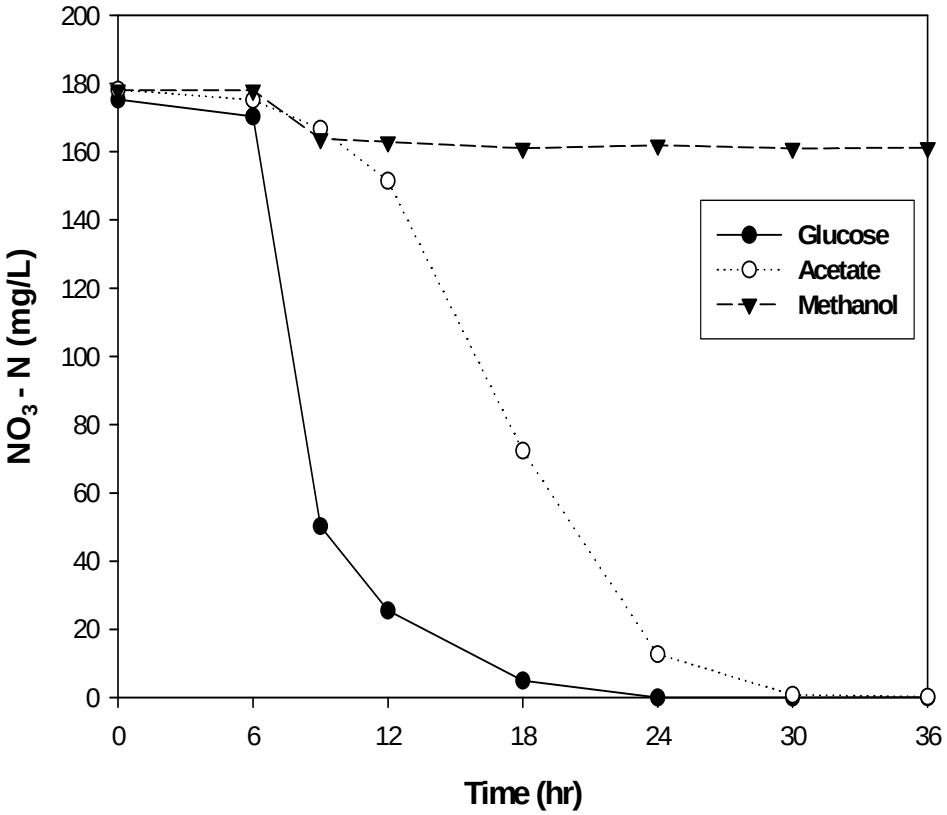

Fig. 18. Effects of different carbon sources on NO_3-N removal.

3) 초기 질소 농도에 따른 NH_4-N과 NO_3-N 제거

본 실험에서는 초기 질소농도에 따른 NH_4-N와 NO_3-N의 제거 변화를 실험 하였으며, 그 결과는 Fig. 19과 Fig. 20에 나타내었다. Fig. 19에서 초기 NH_4-N농도는 25 mg/L ~ 350 mg/L 이고 NO_3-N 역시 25 mg/L ~ 350 mg/L 이며, 총 T-N농도는 700 mg/L가 된다. NH_4-N인 경우 175 mg/L까지는 완전히 제거 되었으나, NH_4-N 350 mg/L에서는 실험 36시간에도 92 mg/L가 남아 있어 약 74%만 제거 되었다.

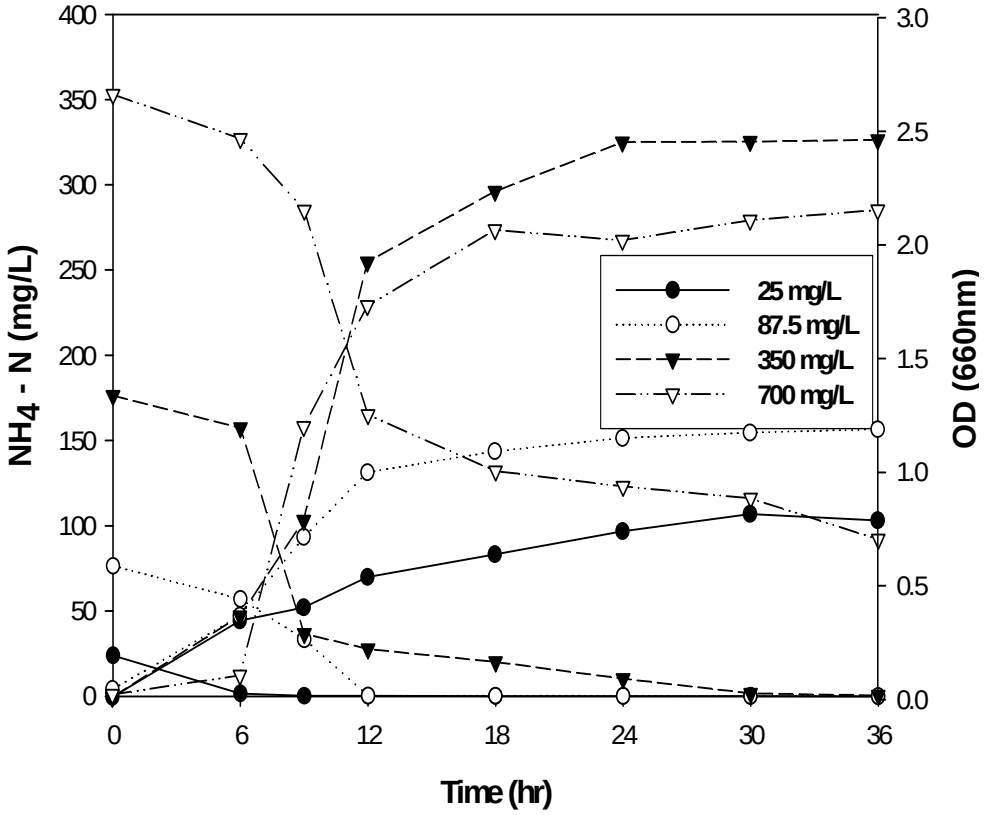

Fig. 19. Effects of different nitrogen concentrations on NH_4-N removal and cell growth.

Fig. 20에서 NO_3-N인 경우에는 350 mg/L에서도 실험 18시간이면 완전히 제거되는 경향을 보였다. 한편 Fig. 19에서 Optical density를 보면 질소농도에 비례하여 Optical density값이 증가됨을 알 수 있었다.

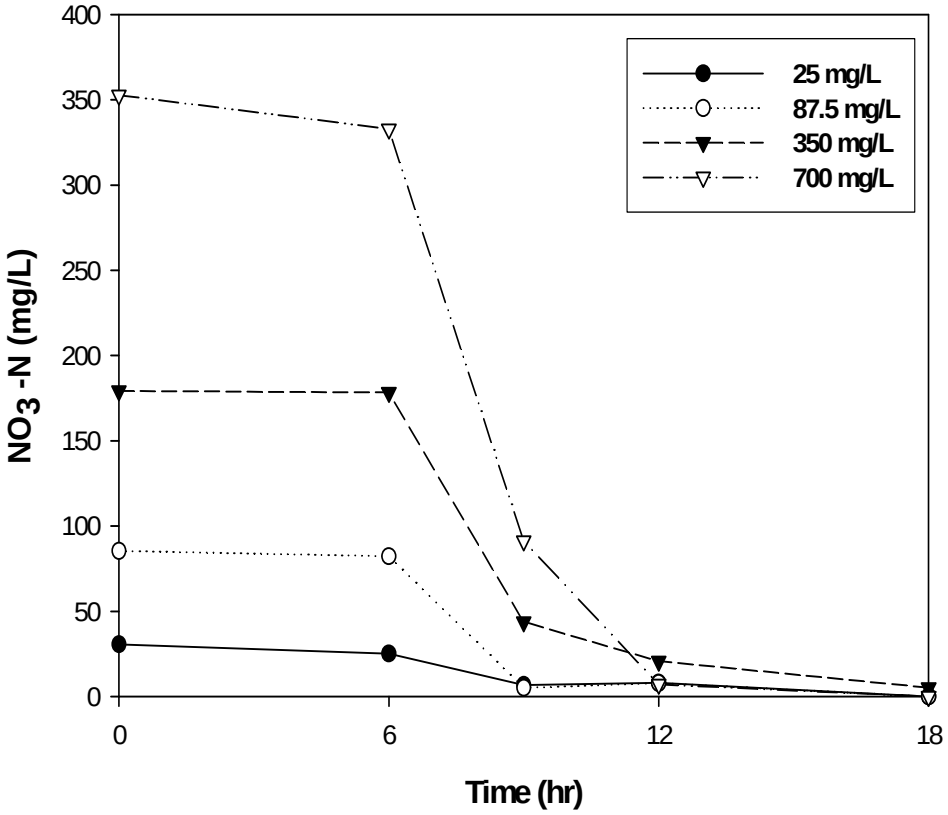

Fig. 20. Effects of different nitrogen concentrations on NO_3-N removal.

4) 초기 Cell농도 변화

본 실험에서는 실험초기의 접종 cell 농도에 따른 NH_4-N와 NO_3-N의 제거 변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 21과 Fig. 22에 나타내었다

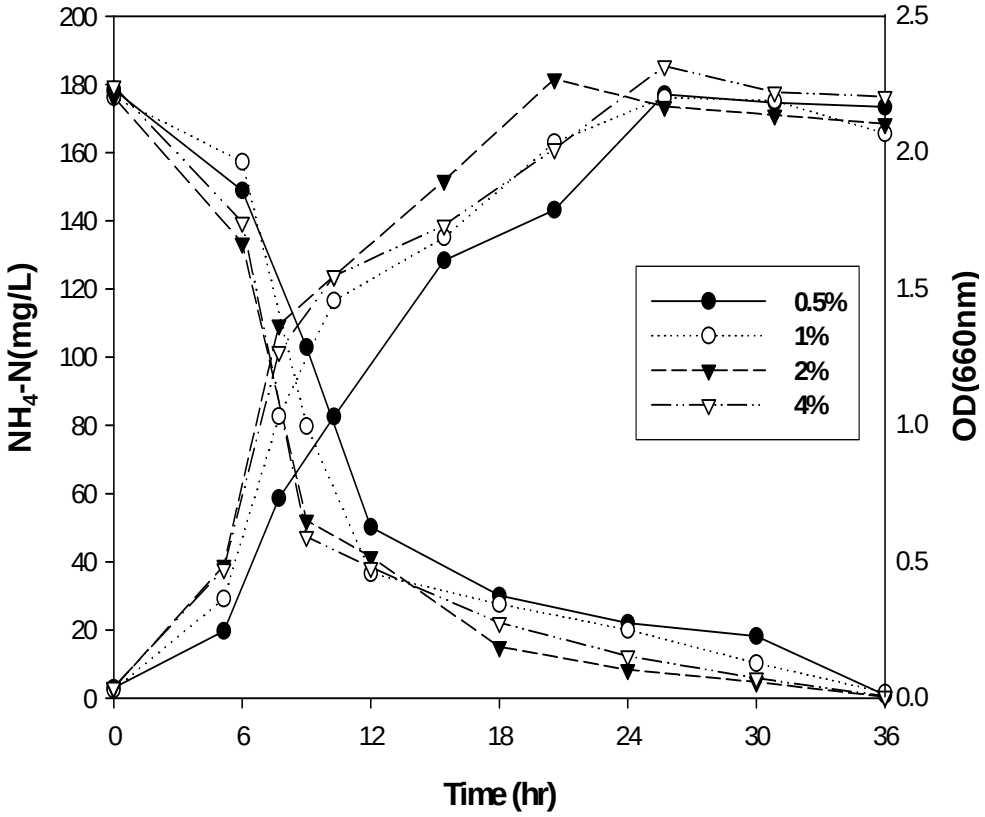

Fig. 21. Effects of different cell concentrations on NH_4-N removal and cell growth.

Fig. 21에서 NH_4-N인 경우 접종하는 cell농도 0.5% ~ 4%의 변화에도 불구하고 제거시간에 큰 변화가 없이 36시간만에 완전히 제거되었고, Fig. 22에서 NO_3-N의 경우에는 초기 cell농도 2%와 4%를 접종하였을 때 약 9시간만에 제거되었으나, 0.5%를 접종하였을 때에는 18시간정도 소요되었다. 이와 같이 접종하는 cell농도가 많으면 NO_3-N제거시간이 단축되나 2%이상이면 NO_3-N이 제거되는 시간은 비슷하였다. 한편 Fig. 21에서 Optical density는 초기 cell농도의 변화에도 불구하고 최종 cell 농도는 비슷한 값을 나타내었다.

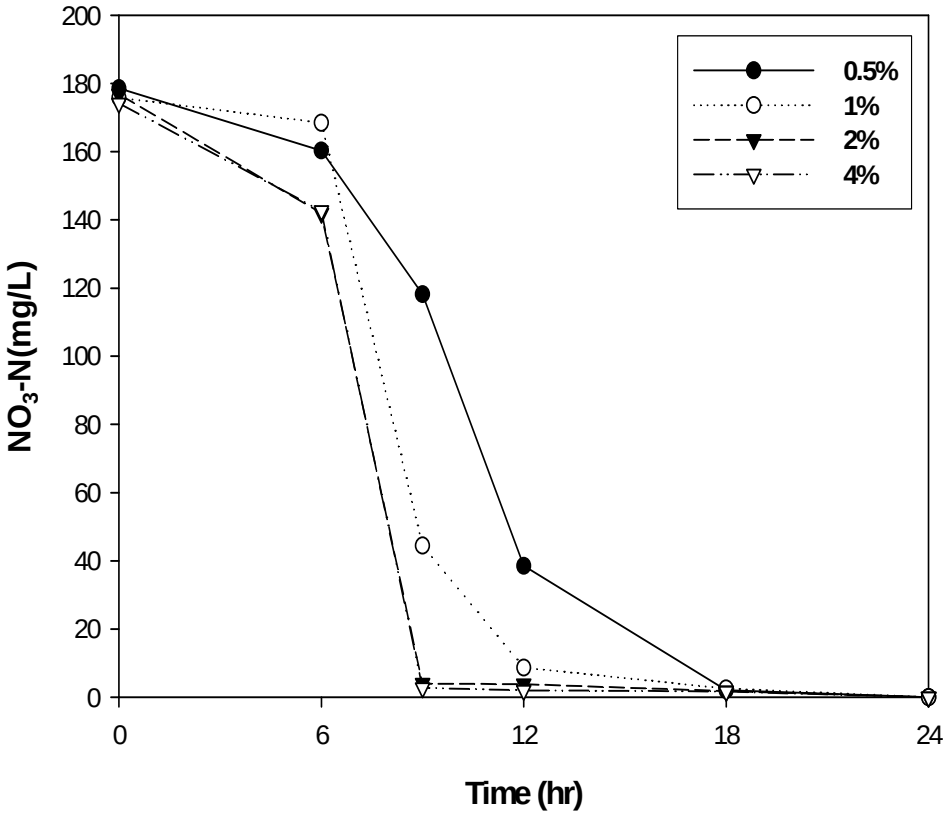

Fig. 22. Effects of different cell concentrations on NO_3-N removal

5) Shaking Speed변화

본 실험에서는 진탕속도에 따른 NH_4-N와 NO_3-N의 제거변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 23와 Fig. 24에 나타내었다. Fig. 23에서 NH_4-N인 경우 진탕속도가 빠를수록 제거 속도가 빨랐고, 진탕속도 60 rpm에서는 실험 36시간에도 24 mg/L가 남아 있어 약 87%만 제거 되었다.

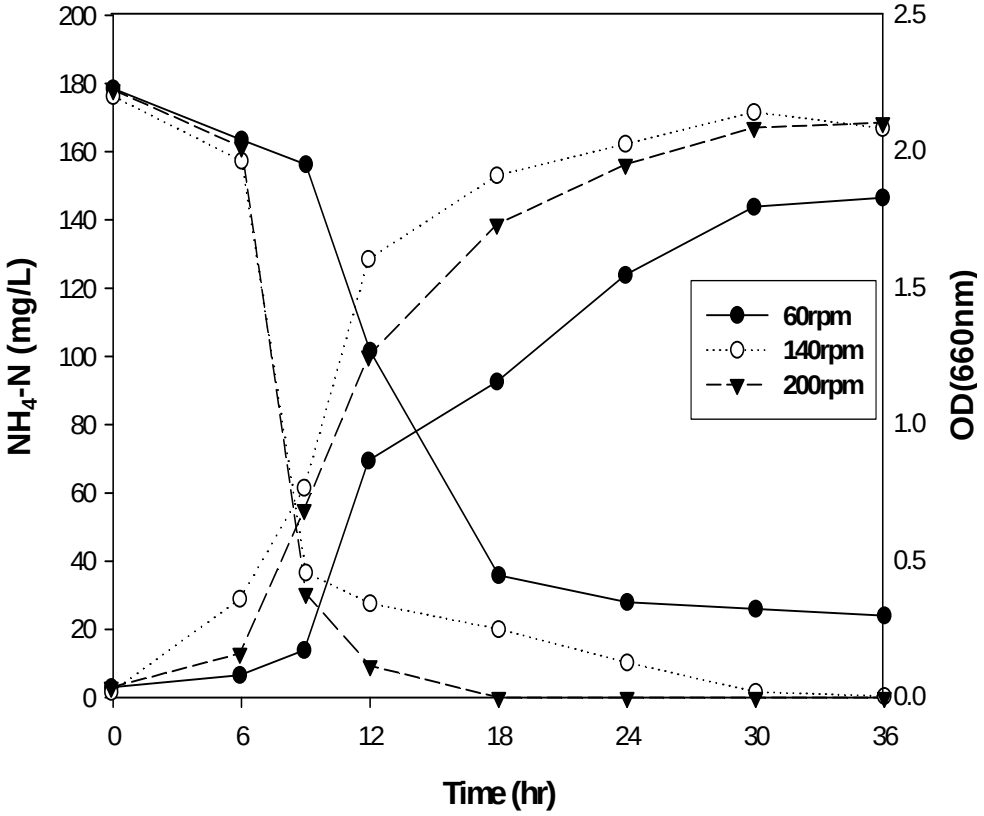

Fig. 23. Effects of different shaking speed on NH_4-N removal and cell growth.

Fig. 24에서 NO_3-N인 경우에도 속도가 빠를수록 제거 시간이 단축되었다. Fig. 23에서 Optical density는 진탕속도 60 rpm에서만 더디게 성장하고 30 시간 이후부터는 비슷한 값을 나타내었다.

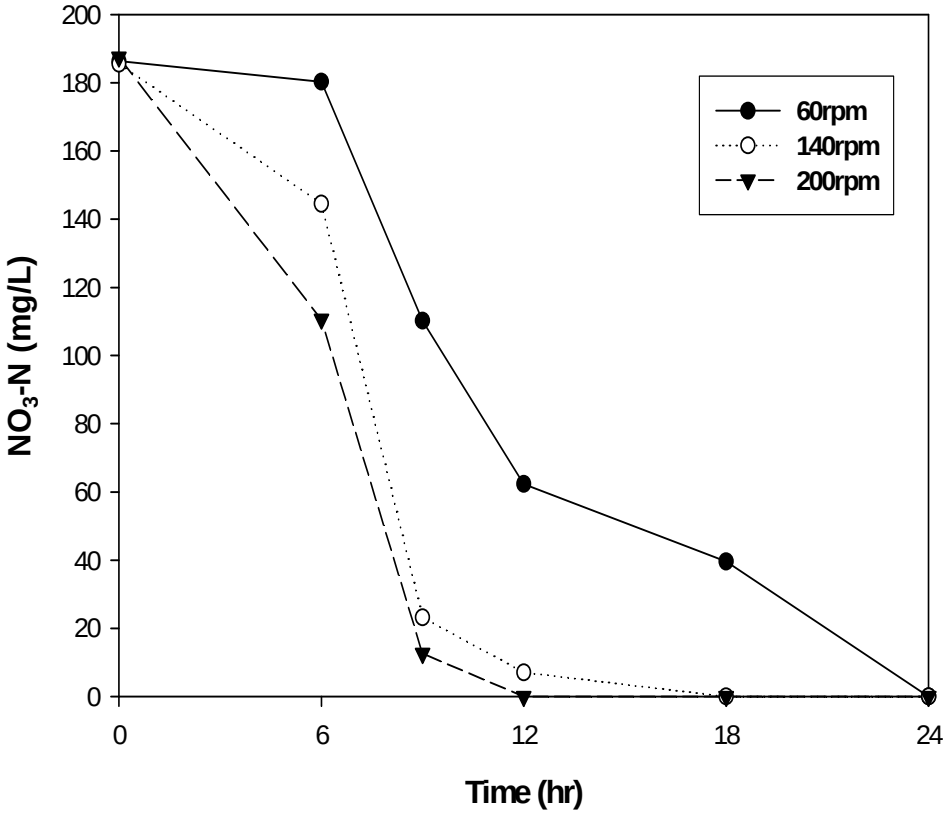

Fig. 24. Effects of different shaking speed on NO_3-N removal.

6) 정치 상태의 NH_4-N와 NO_3-N 제거

Fig. 25와 Fig. 26는 정치 배양시 각각 NH_4-N와 NO_3-N의 제거를 나타내었다. NH_4-N은 진탕 배양시와 마찬가지로 배양 시간에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 96시간에는 94%만 제거 되었으나, 진탕 배양보다(Fig. 15) 제거되는 시간이 길었다.

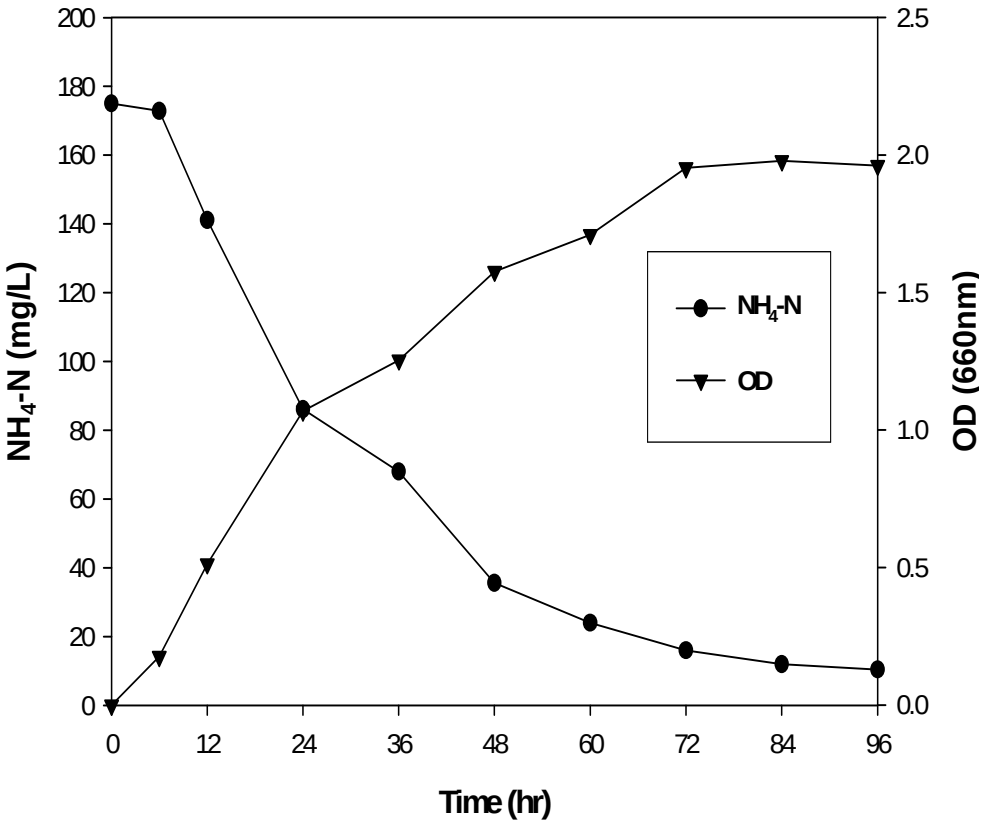

Fig. 25. Effects of stationary culture on NH_4-N removal and cell growth.

NO_3-N 역시 실험 시작과 동시에 제거되기 시작하여 72시간에는 완전히 제거되었으나 진탕 배양(Fig. 16)에서 24시간만에 NO_3-N가 제거 되는 시간보다 약 3배 정도의 시간이 소모 되었다. Optical density는 진탕 배양보다 늦게 증가하고 있지만 92시간째에는 진탕 배양에서의 Optical density와 비슷한 값을 보이고 있다. 이와 같이 본 실험에 사용하고 있는 *Pseudomonas aeruginosa*는 정치 배양 보다는 진탕 배양 시 NH_4-N와 NO_3-N가 빠르게 제거되고 있어 정치 배양보다 진탕 배양하는 것이 바람직하다는 것으로 사료된다.

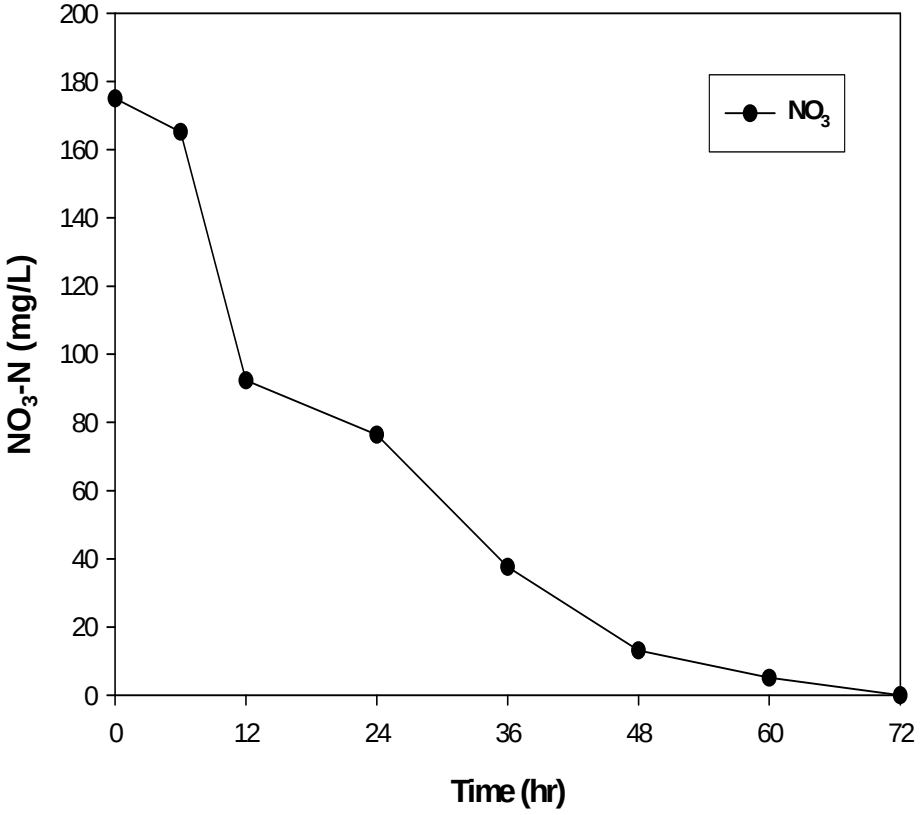

Fig. 26. Effects of stationary culture on NO_3-N removal.

7) C/N 비에 따른 Glucose 변화

본 실험에서는 C/N비에 따른 glucose 제거변화를 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 27에 나타내었다. Fig. 27에서 C/N비 2.5 ~ 34.3일 때 NH_4-N와 NO_3-N의 동시제거에 사용되는 glucose는 각각 98%, 97%, 91% 그리고 C/N비 20 이상은 70%가 소모 되었다. NH_4-N와 NO_3-N가 감소됨과 함께 glucose도 감소하였다. 따라서 glucose가 감소하는 것은 균의 생육에 쓰인 것으로 사료된다.

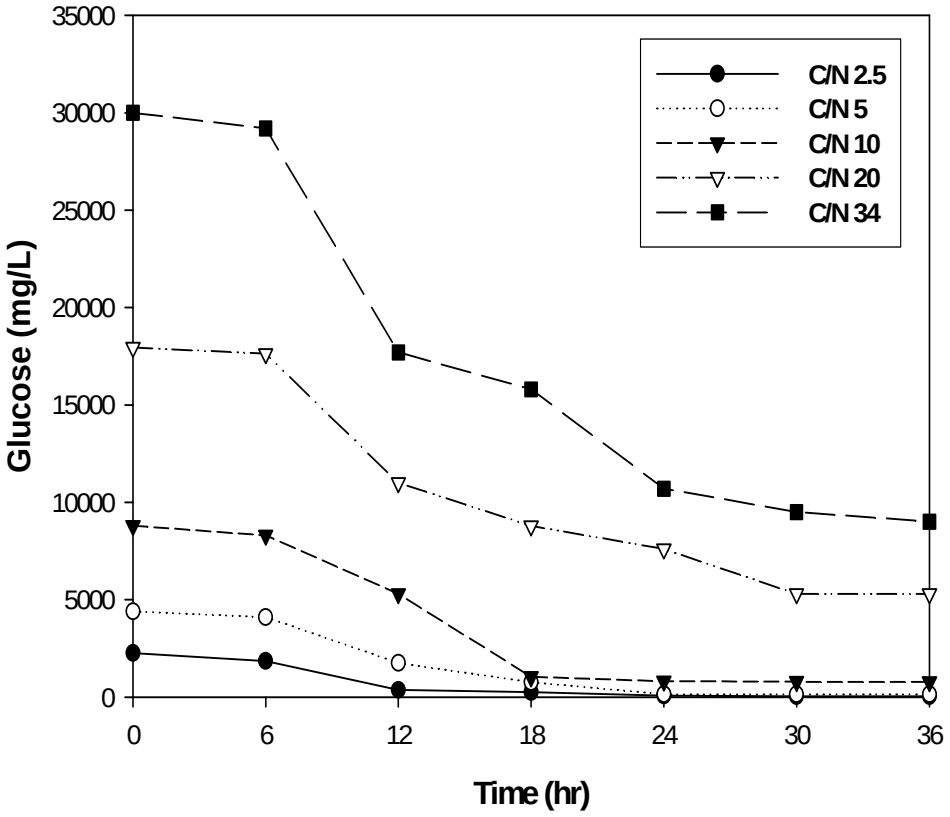

Fig. 27. Effects of different C/N ratios on glucose removal.

8) 세포의 질소 이용

본 실험에서는 *Pseudomonas aeruginosa*의 세포 합성을 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 28에 나타내었다. Fig. 28에서 초기값은 53.13 mg이고, 18시간 상징수와 세포내의 질소는 각각 8.45 mg, 14.03 mg으로 15.9%와 26.4%를 나타내었으며, 36시간에는 각각 4.53 mg, 14.56 mg으로 8.52%와 27.4%를 나타내었다. 나머지 약 64%는 *Pseudomonas aeruginosa*에 의해 탈질이 된 것으로 사료된다.

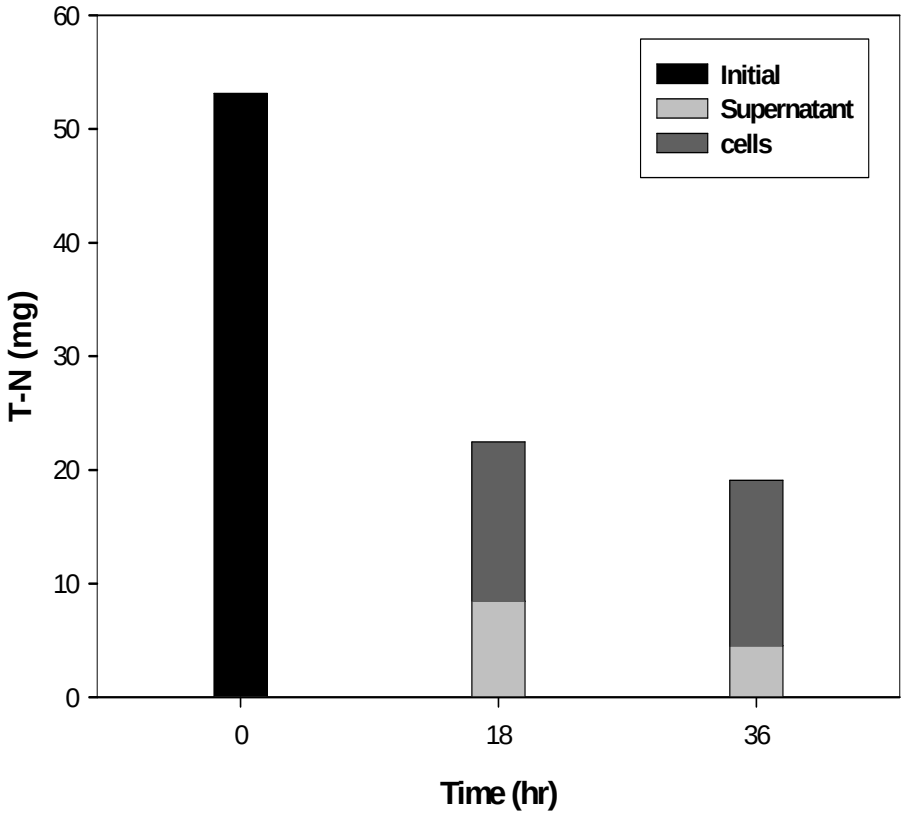

Fig. 28. Analysis of T-N in cultural supernatant and cells.

Ⅴ. 결　론

*Pseudomonas aeruginosa*을 사용하여 NH_4-N과 NO_3-N의 동시 제거를 위하여 c/N비, 탄소원, 질소농도, cell농도 및 진탕속도에 대한 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. C/N비 5이상이면 NH_4-N가 36시간, NO_3-N가 24시간만에 동시 제거가 가능하였다. 또한 C/N비 5에서 질소원으로 NH_4Cl과 $NaNO_3$을 사용하였을 때도 제가가 가능하였다.

2. NH_4-N 및 NO_3-N를 동시에 제거하기 위해서는 탄소원으로 glucose를 이용하는 것이 바람직하고, NO_3-N만 제거하기 위해서는 탄소원으로 glucose와 acetate 둘 다 가능하였다.

3. 초기 질소 농도에 따른 실험에서 동시 제거시 NH_4-N 350 mg/L에서는 약 74%만 제거되었으나 NO_3-N인 경우에는 350 mg/L에서도 완전히 제거되었다.

4. 초기 cell농도가 많으면 NO_3-N 제거시간이 단축되나 2%이상이면 NO_3-N가 제거되는 시간은 비슷하였다. 하지만 NH_4-N는 초기 cell농도 변화와 상관없이 36시간만에 완전히 제거 되었다.

5. *Pseudomonas aeruginosa*를 이용하여 NH_4-N와 NO_3-N 제거시간을 줄이기 위해선 정치배양보다 진탕 배양이 바람직하다.

REFERENCES

1) 김영철, 정팔진, 안익성, “자연현상을 이용한 질산화-탈질공정에 의한 하루처리장 유출수의 질소제거.” 대한환경공학회지, 27(3):323-329, 2005.

2) Mona Kshirsagar, A. B. Gupta, S. K Gupta, “Aerobic denitrification studieson activated sludge mixrd with Thiosphaera pantotropha.” Environmental technology, 16:35-43, 1995.

3) Hung-Soo Joo, Mitsuyo Hirai,Makoto shoda, “Characteristics of amo nium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by Alcaligenes faecalis no.” The Society for Biotechnology, 100:184-191 . 2005.

4) Kuenen, J. G. and Robertson, L. A, “Combined nitrification - denitrifi cation processes.” FEMS Microbiol. Rev. 15:109-117, 1994.

5) 김영주, 송영채, 김종오, 박흥석, “혐기성 상태에서 암모니움 이온과 질산성 질소를 제거하는 미생물의 분리 및 배양조건.” Microbiol.Biotechnol, 33(1):65-69, 2005.

6) Focht, D. D., and Chang, A. C., “Nitrification and denitrification Processes Related to Wastewater Treatment.”A여 Appl. Microbiol, 20: 631, 1997.

7) 김용환, 조재현, 이용우, 정용대, “고정상 담체를 이용한 저부하 유기물 폐수처리 및 부착 미생물 특성 고찰.” 한국수질보전학회, 13(3):255-263 1997.

8) EPA, “Process Design Mannual Nitrogen Control.” Washington, DC, 1975.

9) Sharma, B., and Ahlert, R, C., “Nitrification and Removal.” Wat Res., 11:393-400, 1964,

10) Poduska, R. A. and Adrews, J. F.. “Dynaamics of nitrificationin the Activated Sludge Process”, Jour. water poll. control Fed.,47:2599 -2619, 1975.

11) Nilson, I. Hilson, S, Morin, N. and K. Mosbach, “Denitrificationin of Water using Immobilized Psedomonas Denitrificationin Cells”, Eur. J. Appl. Microbiol biotechnol, 10:261-274, 1991.

12) EPA, “Mannual Nitrogen Control.” EPA/625/R-93/010,Washington, DC, Sempter, 1993.

13) Painter, H. A.,,"A Review of Literature on Inorganic Metabolism in Microorganism.“ Wat. res., 4(6):393-450,1970.

14) Tchobanoglous, G., Burton, F.L. and Stensel, H.D. Wastwater engi neering, McGraw Hill Inc., New Yok, N.Y. 2003.

15) Sumino, T. Nakamura, H. and K. Yukio, “TImmobilization of Nitri-fying Bacteria by Polyethylene Glycol Prepolymer”,J. Ferment. Bioeng, 73:37-42, 1992.

16) U.S EPA, process Design Manual for Nitrogen Control, Office of Wasetwater Enforcement and Compliance Washington, D.C., 1975.

17) Cincinnati, Ohio.. “Process Design Manual for Nitrogen Control”, Environmental Protection Agency, Office of Technology Transfer, 1975.

18) Stephens, H. L. and Stensel, H. D. “Effect of Operating Conditions on Biological Phosphrous Removal”, Water Envir.Res, 70:360-369, 1998.

19) Wanger, M., Rath, G., Amann, R., Koops, H.p. and Schleiferm, K.H. “In situ Identification of ammonia - Oxidizing Bacteria”, sys. Appl. Microbio., 18:251-264, 1995.

20) WEF, Design of Wastewater Treatment Plants, 4th ed., Manual of

Practice No.8, Water Environmental Federation, Alexandria, 1998.
21) Simpkin, T.J. “The Lack of Repression by Oxygen of the Denitrifying Enzymes in Activated Siuge.” Water res., 22:201-206, 1981.
22) Payne, W. J, Denitrification, Wiley-interscience, New York,N.Y.1981.
23) Smolder, G.J.F., ven der Loosdrecht, M.C.M., Heignen, J.J.“Model of the Anaerobic Metabolism of the Biological Phosphorus Rmoval Pocess : Stoichiometry and pH influence”, Biotechnol 44:837-848, 1995.
24) Hockenbury,M.R. and Grady, C.P.L.“Inhibitition of Nitrification Effects of Selected Organic Compounds.”J. Water Pollu. Cont. Fed., 49:768,1977 13-33, 1985.
25) Hochstein, P., Ramasarma, T. and Muakkassah-Kelly,s. “Inhibitition of Nitrification of Dissolved Oxygen.” Water Res.,20(3):243-250, 1984.
26) 김종택, 수질오염공정시험법해설, 서울: 신광출판사, 1999.
27) Sorm, R., Wanner, J., Bortone, G. and Tilche, A. “Behaviour of Activated Sludge from a System with Anoxic Phosphate Uptake”, Wat, Sci. Tech., 37:563-566, 1998.
28) U.S EPA. Manual Nitrogen Control, Office of Wasetwater Enforcement and Compliance Washington, D.c. 1993.
29) Jetten, M.S.M, “Newpathways for ammonia conversion in soil and aquatic systems.” Plant and Soil., 230:9-19, 2001.
30) van Loosdrecht, M.C.M., and Jetten, M.S.M., “Microbiological conversions in nitrogen removal.”Wat. Sci. Tech., 38:1-7, 1998.
31) Somiya, I., Ono, Y. and Uesaka, T.“ Reserch on Organic of High Molecular Organics with Short Hydraulic Retention Time”,Wat. Sci. Tech 27:201-205, 1993.

32) Brodda, E., “Two kind of lithortophs missing in nature”, Z. Allg. Microb 17:491-493, 1977.

33) Wild, H.E., Sawyer, C.N. and McMahon, T.D. “Factors affectiing nitrification kinetics.” J. Water Pollu. Cont. Fed, 43:1845, 1971.

34) Jetten, M. S. M., Horn, S. J., Van Loosdrecht, M.C.M., “Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system”, Wat. SciTech. 35:171-180, 1997.

35) Winogradsky, M.S.“Recherches Sur Les Organismes de la Nitrification”, Annals Institute Pasteur, 5:92, 1981.

37) Rittman, B. E., and McCarty, P. L., Environmental Biotechnology : Principal and Applications, McGraw-Hill, pp, 508-511, 2002.

38) Rittmann, B. E., and Langeland, W. E.,“Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches.”Appl environ. Microb 55:300-308, 1985.

39) Bertanza, G., “Simultaneous nitrification-denitrification process in extended aeration plants: pilot and real scale experience.” Wat. Sci.Tech., 35(6):53:61, 1997.

40) Carte, J.P., Hisiao, Y,S., Spiro, S,, and Richardson, D.J., “Soil and sediment bacteria capable of aerobic nitrate respiration.” Appl. Environ. Microbiol, 61:2853-2858, 1995.

41) Cecen, F., and Gonenc, I.E., “Nitrogen removal characteristics of nitrification and denitrification filters.” Wat. Sci. Tech., 29:409-416, 1994.

42) Cecen, F., and Orak, E., “Nitrification of fertilizer wastewaters in a biofilm reactor.” J. Chem. Tech. Biotechnol., 65:229-238, 1996.

43) De Bruijn, P., van de Fraaf, A.A., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A., and Kuenen, J.G., “Growth of Nitrosomonas europaea on

hydroxylamine." FEMS. Microbiol. Lett., 125:179-184, 1995.

44) De Long, E.F., Wickha, G.S., and Pace, N.R., "Phylogenetic stains:ribosomal RNA-based probes for the identification of single microbial cells." Science, 243:1360-1363, 1989.

45) Egli, K., Franger, U., Alvarez, P.J.J., Siegrist, H., van der Merr, J.R., and Zdhnder, A.J.B., "Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate." Arch. Microbiol., 175:198-207, 2001.

46) Broda, E., "Two kinds of lithotrophs missing in nature." Z. allg. Mikrobiol., 17:491-493, 1977.

47) Tschui, M., Boller, M, Gujer, W., Eugster, J., Mader, C., and Stengel, C., "Tertiary nitrification in aerated pilot biofilter." Wat. Sci. Technol., 29:53-60, 1994.

48) Turk, O., and Mavinic, D.S., "Stability of nitrite build-up in and activated sludge system." J. WPCF., 61:1440-1448, 1989.

49) van de Fraaf, A.A., Mulder, A., de Bruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A., and Kuenen, J.F., "anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process." Appl. Environ. Microbiol., 61:1246-1251, 1995.

50) van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M., and Kuenen, J.G., "Autotrophic growth anaerobic ammonium -oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor." Microbiology, 142:2187-2196, 1995.

51) Toettrup, H, Rogalla, F, Vidal, A, and Harremoes, P,"The treatment trilogy of floating filters:from pilot to prototype plant." Wat.Sci.Technol., 29:23-32, 1994.

52) Villaverde, S:Fernandez, M.T, Uruena, M.A, and Fdz-Polanco, F,

"Influence of substrate concentration on the growth and activity of a nitrifying biofilm in a submerged biofilter." Environ. Technol., 18:921-928, 1997

53) Wagner, M., Rath, G., Amann, R., Koops, H-P., and Schleifer, K-H."In situ identification of ammonia oxidizing bateria." system. Appl. Microbiol., 18:251-264, 1995.

54) Wagner, M.G., Rath, Koops, H-P., Flood, J., and Amann, R. "In situ analysis of nitrfying vacteria in sewage treatment plants." Water Sci. Tech., 34:237-244, 1996.

55) Westerman, P.W., Bicudo, J.R., and Kantardjieff, A., "Upflow biological aerated filters for the treatment of flushed swine manure." Bioresource Technology, 74:181-190, 2000.

56) Christensson, M., Lie., and Welander, T., "A comparison between ethanol andmethanol as carbon sources for denitrification." Water Sci. Technaol. 30(6):83-90, 1994.