





2009年 8月

博士學位論文

고정화 미생물 및 생물막 프로세스를 이용한 합성하수의 질소제거에 관한 연구

朝鮮大學校大學院

環境生命工學科

姜 永 周



고정화 미생물 및 생물막 프로세스를 이용한 합성하수의 질소제거에 관한 연구

A Study on the removal of Nitrogen from Synthetic Wastewater by Immobilized Microorganism and Biofilm Process

2009年 5月 日

朝鮮大學校大學院

環境生命工學科

姜 永 周



고정화 미생물 및 생물막프로세스를 이용한 합성하수의 질소제거에 관한 연구

指導教授 崔炯一

이 論文을 工學博士 學位申請 論文으로 提出함.

2009 年 4 月 日

朝鮮大學校大學院

環境生命工學科

姜 永 周



姜永周의 博士學位論文을 認准함

委員	員長	朝鮮大學校 教授	鄭	京勳	ЕD
委	員	朝鮮大學校 教授	申	大 允	印
委	員	木浦海洋大學校 教授	金	于 伉	印
委	員	光州廣域市 保健環境研究院 部長	白	桂辰	印
委	員	朝鮮大學校 教授	崔	炯 —	ЕD

2009 年 6月

朝鮮大學校大學院

목 차
List of tables v
List of figures vi
ABSTRACT ······ xi
I.서 론····································
Ⅱ. 이론적 고찰
1. 생물학적 질소 제거4
1) 질산화
2) 탈질화
2. 동시 질산화 탈질
1) 동시 질산화 탈질 반응의 원리
2) 동시 질산화 탈질 반응의 영향인자8
가) DO농도8
나) HRT9
다) C/N 비9
라) floc 크기
3. 질소제거 미생물의 생리학적 특성 (phylogeny)
1) 암모니아 산화 미생물 (Proteobacterial ammonia oxidizers) 11
2) 호기성 아질산염 산화 미생물 (Aerobic nitrite oxidizers) 12
3) 혐기성 암모니아 산화 미생물 (Anaerobic ammonia oxidizers)12
4) 종속영양 질산화 (Heterotrophic nitrification)
4. 질소제거 공정 (N-removal processes) ·································
1) 부분적인 아질산화 (Partial nitrification)
2) SHARON 공정
3) Anammox (Anaerobic ammonium oxidation)
4) Canon (Completely autotrophic nitrogen over nitrite)
5) NOx process ······18
6) 공정 순서도
5. 생물막

1) 생물막 형성과정 및 구조	21
2) 생물막 형성의 영향인자	•22
6. 막 결합형 생물반응조	· 24
7. 부직포 여과막 생물반응조	26
8. 미생물 고정화법	27
1) 고정화법의 정의 및 역사	27
2) 고정화법의 특성	28
3) 포괄고정화법의 원리	· 34
4) 포괄고정화 재료 및 조건	35
Ⅲ. 실험방법 및 재료	· 36
1. 고정화 미생물	36
1) 실험재료	36
가) 균주	· 36
나) 합성배지	36
다) 균주의 배양	37
라) 고정화 재료 및 방법	38
2) 실험장치	41
가) 회분식 실험장치	41
나) 연속식 실험장치	41
다) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3과 활성슬러지 조합 실험장치	• 41
3) 실험방법	46
2. 부착 미생물	50
1) 균주 배양 및 생물막의 형성	50
2) 실험장치	50
3) 실험방법	51
3. 분석방법	54
Ⅳ. 결과 및 고찰	55
1. 고정화 <i>K. pneumoniae</i> 를 이용한 질소제거	55
1) 충진율에 따른 NO3-N제거	· 55
2) C/N비에 따른 NO3-N제거	57
3) 탄소원에 따른 NO3-N제거	· 59

4) 초기 NO3-N농도에 따른 NO3-N제거
5) 온도에 따른 NO3-N제거64
6) C/N비에 따른 NO3-N제거(무산소 조건)
7) 탄소원에 따른 NO3-N제거(무산소 조건)68
8) 초기 NO3-N 농도에 따른 NO3-N 제거(무산소조건) 70
9) 고정화 <i>K. pneumoniae</i> 에 의한 연속 NO ₃ -N 제거
2. 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3를 이용한 질소제거
1) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 균체농도에 따른 NH4-N와 NO3-N 제거변화·74
2) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 의 고정화 비드크기에 따른 NH ₄ -N와
NO3-N의 제거변화
3) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3의 충진율에 따른 NH4-N와 NO3-N의 제거
변화
4) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3을 사용한 C/N비에 따른 NH ₄ -N와 NO ₃ -N
의 제거변화
5) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3의 탄소원에 따른 NH ₄ -N와 NO ₃ -N의 제거
변화
6) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3의 NH ₄ -N와 NO ₃ -N의 초기농도에 따른 제
거변화
7) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 의 pH변화에 따른 NH4-N 와 NO3-N의 제
거변화
8) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3의 온도변화에 따른 NH ₄ -N와 NO ₃ -N의 제
거변화
9) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3을 이용한 NH ₄ -N와 NO ₃ -N의 연속적 제거100
3. 활성슬러지 프로세스를 조합한 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3에 의한 NH ₄ -N와
NO3-N의 연속제거106
1) 활성슬러지 반응조 뒤에 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 반응조의 질소제
거
2) 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 반응조 뒤에 활성슬러지 반응조의 질소제
거110
3) 활성슬러지 반응조와 고정화 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 반응조 혼합의 질소
제거

4. 생물막법
1) 활성슬러지 혼합에 따른 NH4-N 및 NO3-N 제거비교 115
2) 생물막에 활성슬러지와 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3을 이용한 NH ₄ -N의 연속
적 제거
3) 생물막 <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3을 이용한 NH ₄ -N와 NO ₃ -N의 연속 제
거
V. 결론····································
REFERENCES

List of tables

Table 1. Des	ign parameters of nitrification systems 6
Table 2. Vari	ables of affecting to the biofilm
Table 3. The	applied range of the immobilized enzymes and
mic	roorganisms28
Table 4. The	comparative of feature by the immobilized method
Table 5. Refe	erences for wastewater treatment by immobilized microorganisms 32
Table 6. Con	nposition of medium for the growth of <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3
and	K. pneumoniae······37
Table 7. Con	nposition of synthetic wastewater
Table 8. Ope	aration conditions
Table 9. Ana	lytical methods and parameters54

List of figures

Fig.	1.	Nitrogen transformations in biological treatment processes
Fig.	2.	Schematic diagram of SND floc
Fig.	З.	Flux diagrams of the partial nitrification (1), SHARON (2),
		Anammox (3), Canon (4), and NOx-process (5). N-compound in
		%(values idealized; they may vary depending on process
		parameter), (g) gaseous NO2 (nitrogen dioxide) 20
Fig.	4.	Schematic diagram of the organic removal by the biological fixed
		film21
Fig.	5.	Schematic of membrane bio-reactors
Fig.	6.	Schematic of the immobilized method
Fig.	7.	Procedure for immobilization of <i>P. aeruginosa</i> AE-1-3 and <i>K.</i>
		pneumoniae······ 39
Fig.	8.	Photograph of bead for immobilized microorganisms
Fig.	9.	Scanning electron micrograph before (A) and after (B) immobilized
		on PEG 60 days 40
Fig.	10	. Schematic diagram of the experimental apparatus for batch
		reactor43
Fig.	11	. Schematic diagram of the experimental apparatus for continuous
		system
Fig.	12	2. Schematic diagram of the experimental apparatus for continuous
		system
Fig.	13	8. Schematic diagram of the experimental system
Fig.	14	. Effect of amount of immobilized bead on the removal of NO_3-N
		by immobilized K. pneumoniae at a C:N ratio of 10:1 and aerobic
		condition
Fig.	15	. Effect of C/N ratios on the removal of NO $_3$ -N by immobilized
		<i>K. pneumoniae</i> at aerobic condition

- Fig. 17. Effect of initial NO₃-N concentration on the removal of NO3-N by immobilized *Klebsiella pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition------62

- Fig. 20. Effect of C/N ratios on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at anoxic condition 67
- Fig. 22. Effect of initial NO₃-N concentration on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and anoxic condition......71
- Fig. 23. Variation of effluent NO₃-N on continuous experiment by immobilized *K. pneumoniae* at 24hrs of HRT and NaNO₃ used as a nitrogen source at a C:N ratio of 10:1......73
- Fig. 25. Effect of cell amounts immobilized in the beads on the removal of NO₃-N at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition......77
- Fig. 26. Effect of bead size on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition 79

- Fig. 30. Effect of C/N ratios on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition 85
- Fig. 31. Effect of C/N ratios on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition 86

- Fig. 37. Effect of pH on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.96
- Fig. 38. Effect of pH on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.96

- Fig. 53. Variations of effluent NH₄-N concentration in the biofilm attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only 120
- Fig. 55. Variations of effluent COD concentration in the biofilm attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only······ 121

ABSTRACT

A Study on the removal of Nitrogen from Synthetic Wastewater by Immobilized Microorganism and Biofilm Process

> by. Kang Yeong Ju Advisor : Prof. Choi Hyung-il Department of Environmental Bioengineering, Graduate School of Chosun University

The aim of this research is to develop a new process of Nitrogen removal. Whole cells of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3 were immobilized by entrapment with polyethlene glycol(PEG), and various factors on the removal of nitrogen from synthetic wastewater were investigated by batch and continuous reactors. also, the possibilities of the removal of nitrogen was investigated by using the biofilm process attached to a nonwoven fabric.

1. The removal of NO₃-N by immobilized K. pneumoniae

The removal time of NO_3-N was faster with increasing of the bead amount in the reactor. The immobilized *K. pneumoniae* utilized glucose, acetate and methanol as carbon sources in the anoxic condition, but methanol as a carbon source was not used for removal of NO_3-N under oxic condition. Until the C/N ratios of 2.5~10, the lag times are similar but at the ratios of 10 and 30, the lag time showed a tendency to getting longer. And in the case of C/N ratios of 2.5, about 41.3% were consumed

because of the lack of carbon sources. The NO₃-N removal efficiency of 65.3% could achieved at the low temperature(10°C) by the immobilized *K. pneumoniae.* It could remove more than 15% than in the case of free cells. When the NO₃-N concentration was 200 mg/ ℓ in the synthetic wastewater, approximately 93.1% of NO₃-N was removed within 30 hours by immobilized *K. pneumoniae.* The immobilized *K. pneumoniae* could remove NO₃-N under anoxic condition. NO₃-N of 50 mg/ ℓ was completely removed at C/N ratio of 2.5 under anoxic condition. This indicates that It is possible to remove NO₃-N at a lower C/N ratio than the oxic condition. The average efficiencies of NO₃-N removal of 99.9% and 99.8% were achieved during continuous treatment by immobilized *K. pneumoniae* at the HRT of 24 hours and 12 hours, respectively.

2. The removal of NH₄-N-N and NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3

The removal rate of NH₄-N and NO₃-N increased with increasing of cell concentration in the immobilized beads. A higher removal rate of NH₄-N and NO₃-N were observed when the smaller bead size and more visual column of the immobilized beads were used. When glucose, was added as a carbon source, 50 mg/ ℓ of NH₄ -N and NO₃-N was completely removed in 18 hours. other carbon source, such as methanol was not utilized.

NH₄-N was completely consumed at C/N of 10 and 20, but C/N 5 and 2.5 the removal efficiencies of NH₄-N and NO₃-N ranged from 35.7%~76.9%. The removal effciencies of NH₄-N and NO₃-N increased with increasing of temperature and the NH₄-N removal efficiency of 94.8% could achieved at the low temperature(10°C) by the immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3. The average removal efficiencies of NH₄-N and NO₃-N at the HRT of 6 and C/N 10 was 90.5% and 93.4% respectively during continuous treatment by the immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 when NH₄NO₃ as a nitrogen source was used.

In the case of using NH_4CI as nitrogen sources, it was assumed that operating in the condition of C/N 10 was adequate to remove effluent

 NH_4-N at 10 mg/ ℓ .

3. The process of *P. aeruginosa* AE-1-3 combinated with activated sludge.

As a result of putting *P. aeruginosa* AE-1-3 to a activated sludge in continuous system, the efficiency of the removal of NH_4-N was 65.8%. But NH_4-N did not convert into NO_3-N . In the case of establishing activated sludge process and then establishing *P. aeruginosa* AE-1-3 process in continuous system, the efficiency of the removal of NH_4-N and NO_3-N were low. It is assumed that the frontier organic substances were almost eliminated that the amount of the organic substances influent to the latter one was too little. In the case of establishing *P. aeruginosa* AE-1-3 process and then establishing activated sludge process, the almost amounts of the organic substances in influent were eliminated in the frontier process. As a result, the efficiency of the removal of NH_4-N and NO_3-N were low because of the lack of the organic substances in the latter process.

4. The process of biological fixed film

As a result of experiments of removing NH₄-N and NO₃-N in continuous system by using the process of attaching activated sludge process and *P. aeruginosa* AE-1-3 at one time to nonwoven fabric and the process of attaching just *P. aeruginosa* AE-1-3, each efficiencies of the removal of NH₄-N were 69.8% and 63.6%. But efficiencies of the removal of NO₃-N were 97.78% and 96.98%. (used NH₄NO₃ as a nitrogen source). As a result of continuous experiments of putting NH₄Cl as nitrogen sources in the process of attaching activated sludge process and *P. aeruginosa* AE-1-3 at one time to nonwoven fabric and the process of attaching just *P. aeruginosa* AE-1-3, the efficiency of removal was 62.5%. And as the experimental time passes, the nitration appeared.

As a result of continuous experiments of putting NH_4-N as nitrogen sources in the process of attaching just *P. aeruginosa* AE-1-3 to

nonwoven fabric, the efficiency of removal of NH_4-N was 56.9% in anoxic condition. The efficiency of removal of NO_3-N was 97.3% in anoxic condition and was 98.9% in aerobic condition.

Ⅰ.서 론

하 · 폐수 중의 질소와 인이 적절하게 제거되지 않은 채 방류될 경우, 수계
내 질소의 다량유입은 부영양화를 야기하며 질산화를 거치는 과정에서 수중의
용존산소를 소모하여 어패류를 폐사시키는 등의 악영향을 미쳐 수자원 확보에
문제점을 일으킨다. 이로 인해 질소물질에 대한 배출기준은 점차 엄격해져 왔으
며, 국내의 경우 수질환경보전법에 의거 1996년 1월 1일부터 방류수 수질기준에
질소항목이 추가되었고, 2001년의 하수도법 시행규칙에 의거하여 지역별 및 시
기별 수질기준이 강화되었다.

현재 총질소의 방류수 수질기준은 특정지역 20 mg/l, 기타지역 60 mg/l이며, 2013년 1월 1일부터는 기타지역 또한 특정지역 기준인 20 mg/l로 강화 될 계획 이다¹⁾. 국내 하수처리장의 대부분은 표준 활성슬러지 공법으로 설계 · 운전되고 있어 유기물 · 부유물질 등은 90% 정도의 제거율을 보이는 반면 질소제거 효율 은 미흡한 실정이다.

부영양화를 일으키는 물질 중의 하나인 질소는 여러 가지 형태로 존재한다. 질 산성 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-탈 질화에 있어서 질소의 감소는 두 변환 단계에서 이루어진다. 첫 단계에서는 호 기성 조건하에서 질산화 독립영양 박테리아가 NH4를 NO3로 질산화하고 두 번째 단계에서는 무산소 조건하에서 탈질 박테리아가 NO3를 N2로 전환시키며 수중에 서 대기 중으로 방출된다²⁾.

최근에는 Mona Kshirsagar 등³⁾은 *Thiosphaera pantotropha*가 혼합된 활성슬 러지 프로세스에서 NO₃의 호기적 탈질을 보고하였고, Joo 등⁴⁾도 Alcaligenes faecalis에 의한 NH₄의 호기적 탈질을 보고한 바 있으며, 여러 종류의 prokaryotic와 eukaryotic heterotrophs가 NH₄를 NO₂ 또는 NO₃로 질산화 할 수 있음도 알려져 있다⁵⁾. 이러한 미생물들은 단일 반응조에서 질소제거가 가능하기 때문에 하수처리에 있어서 흥미가 있을 것으로 생각된다. 또한 고농도의 질소를 함유하고 있는 하수에 대한 경제적인 처리에 관심이 증대되면서 질산화에 필요

한 공기량과 알칼리 소모를 절감하고 탈질화에 필요한 유기물 양을 감소시키기 위한 연구가 진척되면서 ANAMMOX반응에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있다 ⁶⁾. 그러나 ANAMMOX반응은 독립영양 미생물에 의한 반응으로 미생물 성장속도 가 느리며, 유기물을 제거하지 못하는 단점도 있다.

한편 질소를 제거하는 방법으로는 물리화학적 처리법과 생물학적 처리법이 있 다. 물리화학적 처리법으로는 Stripping법이나 불연속점 처리법이 있으나 암모니 아성질소 제거가 주요 처리 대상으로 다른 형태의 질소는 거의 제거되지 않는 다. 또한, 생물학적 처리법으로는 A/O 시스템, Bardenpho 시스템, 생물막법 등 이 있다. 생물학적 처리법에 있어서는 암모니아 형태의 질소를 질산화 박테리아 에 의해 아질산형태, 질산형태로 질산화하며 탈질균에 의해 질소가스로 탈질처 리를 하고 있다. 이러한 처리 프로세스는 슬러지반송이 필요하고 잉여슬러지가 다량 발생하며 특히 질산화균의 질산화속도가 유기물 분해속도에 비해 저온시에 저하되기 때문에 유기물의 처리와 비교해서 두 배이상의 처리시간을 필요로하고 있어 보다 효율이 좋은 제거기술의 개발이 요망되고 있다⁷⁾. 상기의 문제점을 해 결하기 위하여 본 연구에서는 질소를 제거하는 박테리아를 고정화하는 기술을 이용하였다.

고정화법은 반응조내에 유효한 미생물을 정착시킴과 동시에 미생물의 농도를 증가시켜 반응조를 콤팩트화 하고 효율을 높이는 장점이 있다. 즉, 오염물질의 분해능력이 우수한 균을 자연계에서 분리하여 대량으로 배양한 후 반응조내에서 고농도로 유지하면서 처리하는 방법이다. 이러한 방법을 이용하면 증식속도가 낮은 균을 반응조내에 고농도로 유지할 수 있고 잉여슬러지의 발생량을 저감할 수 있다⁸⁾.

일반적으로 사용되고 있는 미생물 고정화방법에는 불용성 media에 부착시키는 담체결합법, 가교법, 포괄고정화법등이 사용되고 있다. 포괄고정화법은 하수처리 분야에 많이 사용되고 있는데 이는 미생물을 고농도로 유지시킬 수 있어 처리의 효율을 높일 수 있고, 특정한 미생물을 고정화함으로서 특정물질의 처리가 가능 하고, 시설의 compact화 및 슬러지의 감량화가 가능하게 되기 때문이다⁸⁾.

미생물을 고정화하는 재료로서는 천연 및 합성고분자 물질이 있으며, 천연고분 자 물질인 알긴산염 및 카라기난 등은 gel 강도가 낮기 때문에 하수처리에 적용 시키는 데는 어려움이 있어서 최근에는 합성고분자인 photo-crosslinked resin, polyvinylalcohol, polyacrylamide, 등이 널리 사용되고 있다⁹⁾.

따라서 본 연구에서는 질소 제거의 새로운 방법을 개발하고자 Polyethylene glycol이 주 성분인 고분자 물질에 김 등^{10,11)}이 분리한 질소제거 박테리아 *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3과 *K. pneumoniae*를 포괄고정화 하여 합성 하수 중의 질소제거에 영향을 주는 여러 인자들을 회분식으로 검토함과 동시에 연속적으로 질소제거 가능성을 검토하였으며. 또한 위의 2 균주를 부직포에 부 착시킨 생물막 반응조를 이용하여 합성하수 중의 질소제거 가능성을 검토하였 다.

Ⅱ. 이론적 고찰

1. 생물학적 질소 제거

하수 중의 질소는 4가지 형태, 즉 유기성 질소, 암모니아성 질소(NH₄-N), 아 질산성 질소(NO₂-N) 및 질산성 질소(NO₃-N)로 존재하며, 유기성 질소는 미생물 에 의해 암모니아성 질소로 전환되는데 이 과정을 암모니아화(ammonification) 라고 한다. 이렇게 생성된 암모니아성 질소와 원래 하수 중의 암모니아성 질소 는 하수 중의 주된 질소 형태가 되는 것이다.

질소제거 공법은 여과, 흡착, 파괴점 염소주입, ammonia 탈기와 같은 물리 · 화학적 공법과, 질산화 반응 및 탈질 반응을 이용한 생물학적 공법의 두 가지로 구분할 수 있다. 생물학적 처리에 의해 질소를 제거하는 방법은 첫째로 질소성 분을 미생물 동화작용(Assimilation)에 의해 세포구성요소로 사용하는 것이며, 둘 째는 질산화와 탈질로 나눌 수 있다¹²⁾. 생물학적 처리공정 내에서 질소 변화과정 을 Fig. 1에 나타내었다.



Fig. 1. Nitrogen transformations in biological treatment processes.



1) 질산화

질산화(nitrification)는 호기성 독립영양 bacteria에 의해 NH₄-N가 NO₃-N로 산화되는 것이다. 질산화 반응을 일으키는 미생물로는 *Nitrosomonas*와 *Nitrobactor*가 잘 알려져 있으며, 이러한 질산화 미생물은 종속영양 미생물에

비해 세포 증식량이 적은 것으로 알려져 있다.

질산화는 2단계로 진행되는데, 암모니아성 질소가 질산성 질소로 산화되는 과정은 다음과 같다.

> $NH_{4}^{+} + 1.5O_{2} \rightarrow NO_{2}^{-} + H_{2}O + 2H^{+}$ (1.1) $NO_{2}^{-} + 0.5O_{2} \rightarrow NO_{3}^{-}$

첫 단계에서 *Nitrosomonas*는 독립영양 bacteria로서 NH4에서 hydroxylamine (NH2OH)을 거쳐 NO2로 산화시키며, 다른 종류의 ammonia 산화 bacteria는 *Nitrosospira, Nitrosococcus, Nitrosolobus, Nitrosovibrio*가 있다.

두 번째 단계는 NO₂이 *Nitrobactor*에 의해 NO₃으로 산화되는 과정이다. 다른 아질산염 산화 bacteria는 *Nitrospira, Nitrospina, Nitrocystis* 등이 있다¹³⁾.

식 (1.1)은 에너지 생성반응으로 질산화 박테리아는 이들 반응에서 생성된 에 너지를 세포의 성장과 유지에 사용하며 에너지를 얻는 동안 암모니아성 질소의 일부는 세포질소로 동화된다. 질산화 미생물의 성장속도는 활성슬러지 미생물에 비해 매우 느린 것이 특징이며, *Nitrosomonas*와 *Nitrobactor*의 생성계수는 각각 0.04 ~ 0.13 g VSS/g NO₂-N이며 일반적으로 질산화 공정의 설계에서는 질산 화 미생물의 생성계수를 0.06 ~ 0.20 g VSS/g NH₄-N의 범위 내에서 사용한 다.

질산화 작용은 호기성 조건에서 효과적으로 이루어지며 산화과정 시 생성되 는 수소이온을 중화시키기 위해 충분한 알칼리도를 필요로 한다. 이론적으로 1 g의 NH₄-N가 질산염으로 산화되는데 필요한 이론적 산소 요구량은 4.6 g이고 7.14 g(as CaCO₃)의 알칼리도가 요구 된다¹²⁾. 일반적으로 질산화 공정에 적용 되는 계수는 Table 1에 주어진 바와 같다.

Parameter	Coefficient
Oxygen utilization	4.6 g O ₂ /g NH ₄ -N
Biomass yield	0.1 g VSS/g NH ₄ -N
Alkalinity destroyed	7.1 g alkalinity/g NH4-N

Table 1. Design parameters of nitrification systems.

2) 탈질화

탈질은 이화작용에 의하여 NO₃ 또는 NO₂가 N₂가스로 환원되는 반응이며, 이 때 NO₃ 또는 NO₂은 에너지 생산을 위한 전자수용체로 사용된다. 생물학적 탈질 은 탈질미생물에 의해 산소가 없는 완전 혐기성 상태와는 달리 수중의 산소가 질산염의 형태로 존재하는 무산소 상태에서 진행된다. 약산성 상태에서는 용존 산소가 1 mg/l 이하로 존재하여도 탈질화가 진행되지만, EPA(1993)의 보고에 따르면 용존산소의 농도가 1 mg/l 이상일 경우 탈질화 진행은 무시된다.

탈질화는 종속영양미생물과 독립영양미생물에 의해 일어난다. 탈질화 bacteria는 유기성 또는 무기성 전자공여체를 이용할 수 있는데, 유기물을 이용 하는 것이 종속영양미생물이고 이들은 *Proteobacteria* 종에 널리 존재한다. 독립 영양미생물은 H₂ 및 환원상태의 황을 사용할 수 있다¹⁴⁾.

탈질반응은 유기물 분해반응이기 때문에 탄소원이 필요하며 탄소원으로는 대 부분의 유기물질이 이용되지만 벤젠과 같은 방향족화합물은 불가능하며, 일반적 으로 가장 많이 사용되는 탄소원은 메탄올, 에탄올, 초산, 도시하수 및 공장하수 의 유기물 등이 있으며 메탄올(CH₃OH)의 진행 반응은 다음과 같다¹²⁾.

$$6NO_3^- + 5CH_3OH \rightarrow 3N_2^+ + 7H_2O + 6OH^-$$
 (1.2)

1 g의 NO₃-N가 탈질됨에 따라 약 2.47 g의 메탄올이 소요되고, 0.45 g의 세포가 합성되며 3.57 g (as CaCO₃)의 알칼리도가 생성됨을 알 수 있다.

2. 동시 질산화 탈질

동시 질산화 탈질(Simultaneous Nitrification and Denitrification : SND)은 단일 호기성 반응조에서 질산화와 탈질이 이루어지는 기작 중 하나로, 낮은 DO 농도에서 질산화와 탈질이 한 반응조 내에서 동시에 발현됨이 보고되면서 관심 의 대상이 되었다.

기계적인 표면 포기기에 의해 교반과 포기가 이루어지는 질산화조¹⁵⁾나 25시 간 이상의 긴 수리학적 체류시간을 갖는 산화구 공정^{16),17)}등에서 상당량의 질소 가 제거됨이 보고되어, 무산소조의 구별이 없는 단일 활성슬러지 공정에서의 탈 질화 유도 가능성이 제시되었다. 또한 Rittmann과 Langeland¹⁷⁾의 연구에 의하면 동시 질산화 탈질 공정에 의하여 100% 질소제거가 가능하다고 하였으며, 운영 중인 활성슬러지 공정을 질소제거를 위한 공정으로 전환하기 위하여 실제 처리 장에서 적용되기도 하였다¹⁸⁾. 그러나 호기성 상태에서 탈질이 이루어지는 기작에 대해서는 아직까지 명확하게 규명되지 못하고 있다.

1) 동시 질산화 탈질 반응의 원리

동시 질산화 탈질 기작에 대해 두 가지 가설이 제시되었다.

첫째, 반응조 내 DO농도가 낮거나 0인 지역에서 탈질 현상이 발생할 수 있다. Van Huyssteen¹⁵⁾ 등 stenstron and song¹⁹⁾ 은 기계적인 표면 포기기에 의해 교반과 포기가 이루어지는 질산화조의 경우 DO가 충분히 혼합되지 못하는 dead space에서 탈질화 반응에 유리한 조건이 형성될 수 있다고 생각하였다. 둘째, 반응조 내 미생물 floc은 호기 영역과 무산소 영역의 이중구조로 형성될 수 있다. DO와 용존성 기질이 반응조 내에서 확산될 때, 반응조 내 DO농도와 NH₄-N 및 COD의 농도에 의해 floc 내 · 외부의 DO농도 구배가 형성되어 floc 내부에 무산소 영역이 형성될 수 있는 것이다. DO농도가 비교적 높은 floc 외부에서는 질산화가 이루어지고, 질산화에 의해 생성된 NO₃-N가 용존 유기물과 함께 floc 내부로 침투할 경우, floc 내부에서는 탈질화가 이루어질 수 있다.



Fig. 2. Schematic diagram of SND floc.

2) 동시 질산화 탈질 반응의 영향인자

가) DO농도

DO농도는 동시 질산화 탈질에서 가장 중요한 인자로 작용한다. DO농도가 높을 경우 큰 전단력을 일으켜 미생물의 floc 형성을 방해하거나 깨뜨리게 되며 floc 내부의 무산소 영역 형성이 어려워져 탈질 반응이 저해를 받을 수 있다. 그리고 DO농도가 낮을 경우 질산화의 저해가 일어나 처리효율의 저하를 야기하게 된다. Painter²⁰⁾에 의하면 DO농도가 2 mg/l 이상이면 질산화가 저해작용을 받지 않 으며, 2 mg/l 이하일 때 질산화가 점차적으로 감소하다가 정지하는데, 그 한계 농도를 Bliss와 Barnes²¹⁾는 0.2 mg/l라고 하였다. 탈질은 무산소 조건에서 가장 빠른 속도로 이루어지는데, 일반적으로 DO농도가 0.2 mg/l 이상이면 탈질속도 는 감소하기 시작한다.

이와 같이 질산화와 탈질은 서로 다른 DO농도 조건 하에서 이루어지지만, 반응 조 내에서 측정되는 용액 중 DO농도와 floc 내 실제 DO농도에는 차이가 있으 며, 이 차이로 인해 생성되는 DO농도의 구배는 동시 질산화 탈질을 유도하는 주 요한 제어인자가 되는 것이다²²⁾.



나) HRT

HRT란 하수가 반응조 내에 머무르는 평균 체류시간으로, 하수가 DO와 반응하 는 시간을 의미한다. HRT가 짧으면 floc이 작아지고 하수의 정화가 충분히 이루 어질 수 없다. HRT가 길 경우 전단력에 의해 floc 입자가 파괴되어 다량의 미생 물 조각으로 분리되면서 침전성이 불량해지고 효율이 저하될 뿐만 아니라, 불필 요한 HRT로 운전비용이 증가하게 된다²³⁾.

NH₄-N의 완전한 질산화를 유도하기 위해서는 12시간도 충분한 HRT이지만, 탈 질화와 경제성을 고려한 적정 체류시간은 24시간이라고 보고된 바 있다. 동시 질산화 탈질 반응의 경우 상대적으로 낮은 DO농도로 유지되므로 유기물 분해 및 질산화를 위해서는 상대적으로 긴 HRT가 필요하다고 판단된다.

다) C/N 비

모든 process에서 탈질을 수행하기 위해서 유기탄소의 공급은 미생물의 탄소원 과 에너지원으로 없어서는 안 될 가장 중요한 요소 중의 하나이다. 탈질을 위한 COD : N 비율 3.5 ~ 4.5 g COD/g N 이라는 값은, 호기성 상태에서의 COD 손실을 고려하지 않은 이론상의 값이므로 실제 SND에서 필요로 하는 C : N 비 율은 이론상의 값보다 과량으로 필요하게 된다.

탄소원이 증가하면 즉시 SND의 활성이 증가하고 이러한 현상으로 SND 수행에 탄소원의 비율이 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있다²⁴⁾.



라) floc 크기

동시 질산화 탈질 반응이 biofilm 성층에 의해 발생한다는 기본 가정에 의하 면, floc의 크기가 커지게 되면 중심에 생성되는 무산소 부분 또한 커지게 되어 floc 내부의 탈질을 위한 면적이 증가하게 되고 floc 내부에서 일어날 수 있는 SND 효율도 높아지게 된다.

동시 질산화 탈질이 이루어지지 않는 표준 활성슬러지공법에서의 floc 크기는 보통 10 ~ 70 때인 반면, 동시 질산화 탈질 반응이 구현된 반응조의 floc 크기 는 50 ~ 110 때으로 알려져 있다. SBR공정에서 미생물입자의 평균크기를 80 때에서 40 때로 줄였을 경우 SND에 의한 질소 제거율은 50%에서 21%로 감소 한다고 보고 하였으며, 이는 큰 미생물 입자들은 탈질을 위해 필요한 무산소 공 간이 입자 내에 존재하기 때문이라고 보고한 바 있다²⁵⁾.

마) pH

동시 질산화 탈질 반응에서는 탈질반응에서 알칼리도가 생성되므로, 일반적인 질산화 반응에 비해 pH가 상대적으로 높게 유지될 수 있으며 탈질미생물은 질 산화 미생물에 비해 pH에 크게 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 pH 7.0과 8.0 사이에서 탈질률에 대한 현저한 영향은 없는 것으로

보고된 반면, Dawson과 Murphy(1972)는 회분식 비순응 실험에서 pH가 7에서 6으로 감소함에 따라 탈질률이 감소하는 것으로 보고하였다²¹⁾.

3. 질소제거 미생물의 생리학적 특성 (phylogeny)

생물학적 질소제거에 기여하는 절대 독립영양 박테리아는 세 그룹이 있다. 이미 잘 알려진, 호기성 암모니아 산화와 아질산화, 혐기성 암모니아 산화이다. 이들 모두는 무기성 질소화합물 산화반응을 통해 미생물 성장에너지를 이끌어낸다.

1) 암모니아 산화 미생물 (Proteobacterial ammonia oxidizers)

암모니아 산화 미생물들은 일반적으로 절대 호기적 독립영양으로 생각되었지만, 최근에는 유기 화합물을 탄소원과 에너지원으로 이용될 수 있다는 보고도 있다. 또한 이런 미생물들이 혐기성 물질대사도 하는 것이 발견되어 proteobacterial 암모니아 산화 미생물은 호기 또는 혐기성 암모니아 산화로부터 에너지 성장을 얻을 수 있다. 산화 공정에서 암모늄(NH₄)이 아닌 대부분의 암모니아(NH₃)를 기 질로 쓰고 있다²⁶⁾. 이에 따른 주요 부산물은 호기 상태에서는 아질산염, 무산소 상태에서는 질소기체, 아질산염, N₂O가 생산된다. 호기성과 혐기성 암모니아 산 화는 암모니아가 AMO(enzyme ammonia monooxygenase)에 의해 하이드록실 아민으로 산화된다. 여기서 산소와 N₂O₄(NO₂의 이합체)는 이 효소들을 위한 전 자 수용체들이다(식 3.1과 2).

NH₃ + O₂ + 2H⁺ + 2e⁻ → NH₂OH + H₂O [△G[°] -120 kJ mol⁻¹] (3.1) NH₃ + N₂O₄ + 2H⁺ + 2e⁻ → NH₂OH + 2NO +H₂O [△G[°] -140 kJ mol⁻¹] (3.2) 암모니아 산화로부터 나온 하이드록실아민은 HAO(hydroxylamine oxidoreductase) 에 의해 아질산염으로 산화된다.

 $NH_2OH + H_2O \rightarrow HNO_2 + 4H^+ + 4e^-$ [$\triangle G^{\circ'} - 289 \text{ kJ mol}^{-1}$] (3.3)

이 반응으로부터 나온 4개의 전자가 AMO 반응(식 3.1과 2)과 CO₂ 동화작용, 호흡작용²⁷⁾으로 공급된다²⁸⁾. 이 4개의 전자는 전자 수용체인 O₂(호기 상태) 또는 아질산염(무산소 상태)으로 이동된다.

호기 상태에서, 생산된 NO는 NO₂로 산화된다. NH₂OH가 NO₂으로 산화하는 동 안(식 3.3), NO는 NO₂(N₂O₄)로 산화(환원)된다(식 3.4).

$$2NO + O_2 \rightarrow 2NO_2(N_2O_4) \tag{3.4}$$

2) 호기성 아질산염 산화 미생물 (Aerobic nitrite oxidizers)

질산화의 두 번째 과정인, 아질산염의 질산염으로의 산화는 아질산염 산화 박테 리아(*Nitrobacter, Nitrococcus*와 *Nitrosipira*)에 의해서 반응한다²⁹⁾. 아질산염 산 화 미생물은 일반적으로 절대 독립영양 유기체이다. 종속영양을 하는 아질산화 미생물에 대하여 알아보면, *Nitrobacter*계통의 몇몇은 호기 뿐 만 아니라 무산소 에서도 종속영양을 할 수 있다고 한다^{26,30)}.

무산소 상태에서 Nitrobacter의 어떤 종은 질산염을 전자수용체로 사용하여 탈 질을 하기도 한다³¹⁾. 아질산염의 산화는 가역반응이고, 산소의 존재 하에서 아질 산염을 질산염으로 산화할 수 있다³²⁾. 아질산염 산화는 호기 상태에서 필수적으 로 일어난다.

산소 제한에 따른 민감도는 암모니아 산화 미생물보다 더 민감하며 용존산소 농도가 0.5 mg/l일 때 아질산염 산화는 저해 받고, *Nitrobacter*는 다소 높은 산 소 농도에 저해를 받는다. 따라서 아질산염 산화를 위한 산소 농도는 아질산염 축적을 이루지 않게 유지해야만 한다. 충분한 산소가 있는 상태에서 암모니아에 서 아질산염으로 변환율을 빠르게 하므로 높은 아질산염 농도는 자연환경이나 하수처리에서 보기 드물다.

3) 혐기성 암모니아 산화 미생물 (Anaerobic ammonia oxidizers)

질산화 미생물에 의한 암모니아의 호기성 산화는 지난 100년 이상 연구되었고, 그 공정에 대한 생화학적 원리는 1926년에 이미 설명되었다. 그러나 혐기성 암 모니아 산화(식 3.5)에 대한 미생물학과 생화학적 원리는 아직 연구 중이다.

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$$
 (3.5)

혐기성 암모니아 산화(Anammox)에 대한 첫 번째 실험적인 확인은 Mulder etal^{33,34)}에 의해 확인되었다. 그 공정의 생물학적 성질은 아질산염을 전자수용체 로 택하였고, 하이드라진과 하이드록실아민이 중요한 매개체들로 확인되었다.

4) 종속영양 질산화 (Heterotrophic nitrification)

다양한 유기화학영양 미생물들에 의한 암모니아³⁵⁾, 하이드록실아민³⁶⁾, 유기질소 화합물, oximes³⁷⁾의 아질산염이나 질산염으로의 산화를 종속영양 질산화로 불리 운다.

종속영양 질산화는 algae, fungi³⁸⁾와 bacteria³⁹⁾사이에서 발견된다. 일반적으로 독립영양 질산화율은 종속영양 질산화보다 더 낮다⁴⁰⁾. 따라서 독립영양 질산화에 알맞지 않은 산성 환경에서는 종속영양 질산화가 우선하여 발생한다⁴¹⁾.

김 등¹⁰⁾은 Heterotrophy이지만 혐기성 상태에서 유기물과 암모니아성 질소 및 질산성 질소를 동시에 제거하는 균주 *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3를 분 리하였다. 또한 주 등⁴²⁾은 *A. faecalis* No. 4를 사용하여 암모늄 제거에 대한 메 커니즘을 해석하였는데, 초기 암모늄 농도의 45.4%의 질소가 세포 내로 동화하 여 제거되고, 3.6%의 암모늄이 통기에 의한 암모니아가스로서 휘발되었다. 종속 영양 질산화 반응에 의해서 최종적으로 수중에 2.6%가 아질산이나 질산이온의 형태로 남아있었으며, 나머지 48.4%는 종속영양 질산화-호기탈질을 통해서 제 거됨을 확인한 바 있다.

4. 질소제거 공정 (N-removal processes)

1) 부분적인 아질산화 (Partial nitrification)

부분적인 아질산화는 모든 암모니아를 질산염으로 산화하는 것이 아니라, 암 모니아의 절반을 아질산염으로 산화(식 4.1)하는 것이다.

$$2NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow 2NO_2^- + 4H^+ + 2H_2O$$
(4.1)

부분적인 아질산화 공정에서는 짧은 체류시간(약 1day)과 높은 온도(35℃)에 서 아질산염 산화 박테리아는 유실되어 아질산염만 생성되는 것을 말한다. 암모 니아가 아질산으로 산화(3.22 g O₂/g NH₄-NO₂)되는데는, 암모니아가 질산염으 로 산화(4.33 g O₂/g NH₄-NO₃)되는 것보다 25%의 산소가 절약된다.

2) SHARON 공정

SHARON은 암모니아를 아질산염으로 산화(식 4.1)시키고, 유기물의 주입에 의해 탈질 시키는 공정(식 4.2)으로 SHARON에서는 아질산염을 질산염으로 산 화하는 단계가 중요한 운전인자이다⁴³⁾.

 $2NO_2^- + 4.8 \text{ g COD} + 2H^+ \rightarrow N_2 + 1.8 \text{ g Sludge}$ (4.2)

아질산염에서 질산염으로의 산화는 적어도 두 가지 방법으로 저해할 수 있다. 첫 번째는, 암모니아와 아질산염 산화 사이에 활성슬러지의 차이를 사용함으로 써 저해할 수 있다. 암모니아와 아질산염의 산화의 서로 다른 성장률을 이용한 SHARON 공정은 충분히 높은 온도(26℃ 이상)에서 운전한다^{43,44)}. 아질산염 산화 박테리아의 성장이 암모니아 산화 박테리아(약 1day)보다 긴 HRT에서 일어난다. 슬러지 보유를 하지 않은 공정에서 아질산염 산화 박테리아는 SHARON 공정에 서 유실된다. SHARON 공정은 높은 운전 온도특성을 가지기 때문에, 모든 하수

에는 적당하지 않으나 높은 암모니아와 높은 온도를 가진 하수에는 적당하다. 게다가, 어떠한 슬러지 보유특성도 없기 때문에 HRT를 고정해야 하고, 부하율은 암모니아농도에 의존된다. 따라서, 처리비용 또한 암모니아 농도에 의존된다. 포 기는 산소공급과 CO₂스트리핑에 의한 pH조절특성에 따른다. SHARON은 아질산 염을 질소기체로 보내기 위해 탈질을 해야 한다. 포기를 끊었을 때 메탄올을 주 기적으로 공급한다. 낮은 C/N비를 가진 하수에 전자 공여체로 메탄올을 첨가하 면 비용에 효과적이고, CO₂도 적게 배출한다.

3) Anammox (Anaerobic ammonium oxidation)

Anammox는 전자수용체로써 아질산염을 사용하여 암모니아를 질소기체로 산 화한다. 이 공정은 독립영양이어서 탄소원을 CO₂ 또는 HCO₃를 사용하고^{45,46)}, 전자공여체로써 암모니아를 이용하여 탈질을 한다³³⁾. 일반적인 Anammox 반응 식은 다음과 같다(식 4.3과 4).

 $NH_{4}^{+} + 1.32NO_{2}^{-} + 0.066HCO_{3}^{-} + 0.13H^{+}$ $\rightarrow 1.02N_{2} + 0.26NO_{3}^{-} + 0.066CH_{2}O_{0.5}N_{0.15} + 2.03H_{2}O$ (4.3)

 NH_4^+ + 1.31NO₂⁻ + 0.0425CO₂(at anaerobic) → 0.0425CH₂O(biomass) + 1.045N₂ + 0.22NO₃⁻ + 0.09OH⁻ + 1.87H₂O (4.4)

Anammox는 암모니아의 반을 아질산염으로 전환하는 부분적인 아질산화 수 행 후를 전제로 하고 있으며, 메탄올 공급과 무산소 공정으로 이동과 같은 피드 백 제어가 필요 없이, 암모니아/아질산염의 혼합물을 생성한다. 이것은 암모니아 의 50%가 산화된 후에 pH(to 6.7)의 감소로 남아있는 암모니아 산화를 저해한 다⁴⁷⁾.

4) Canon (Completely autotrophic nitrogen over nitrite)

Canon은 한 반응조 내에서의 부분적인 아질산화와 Anammox의 결합이다 ^{48,49)}. Canon은 두 그룹의 미생물의 협력에 위한 연속적인 반응에 의한 방법으 로, biofilm의 호기성 지역에서는 식(4.5)와 같은 반응을 하고, biofilm의 혐기성 지역에서는 식(4.6)과 같은 반응을 하는 것으로 보여주고 있다(식 4.7은 4.5와 6 의 합이다).

$$\begin{split} \mathsf{NH}_4^+ &+ 1.5\mathsf{O}_2 \to \mathsf{NO}_2^- + 2\mathsf{H}^+ + \mathsf{H}_2\mathsf{O} & [\bigtriangleup \mathsf{G}^\circ &-275 \text{ kJ mol}^{-1}] \ (4.5) \\ \mathsf{NH}_4^+ &+ 1.3\mathsf{NO}_2^- \to 1.02\mathsf{N}_2 + 0.26\mathsf{NO}_3^- + 2\mathsf{H}_2\mathsf{O} & [\bigtriangleup \mathsf{G}^\circ &-375 \text{ kJ mol}^{-1}] \ (4.6) \\ \mathsf{NH}_4^+ &+ 0.85\mathsf{O}_2 \to 0.435\mathsf{N}_2 + 0.13\mathsf{NO}_3^- + 1.3\mathsf{H}_2\mathsf{O} + 1.4\mathsf{H}^+ \end{split}$$

암모니아를 아질산염으로 산화하는 미생물은 산소를 소비하고 Anammox 공 정이 필요로 하는 무산소 상태를 만든다. Canon은 lab실험에 적용되어졌고, 부 하율은 1.5 kg N/m³/day로 Anammox보다 낮지만, 단지 하나의 반응조만 요구 되기 때문에 경제적으로 유리하고 암모니아 부하가 낮은 경우에도 유리하다.
5) NOx process

NOx의 존재하에서, *Nitrosomonas* 같은 미생물은 호기 상태에서 연속적으로 질산화와 탈질을 하여 N₂를 생성한다. 암모니아의 40%만이 아질산염으로 변환 한다. 그 외에도, 질산화 단계(아질산염을 전자수용체로 이용)보다 50%의 낮은 산소를 요구하고, 그 후의 탈질단계에도 다소 적은 COD가 소비된다. NOx의 공 급이 없을 때 질산화/탈질공정에서 질소 변환에 관한 식은 식(4.8 ~ 10)이며, NOx에 의해 영향을 받은 질소 변환에 관한 식은 식(4.11 ~ 13)이다. [H]는 환 원 등가(외부의 탄소원)로 표현된다.

<Conventional plant>

Nitrification	:	$3NH_4^+ + 6C$	$_2 \rightarrow$	3NO3 +	6H ⁺ +	3H ₂ O	(4.8)
Denitrification	:	3NO3 ⁻ + 3H	l ⁺ +	15[H] →	1.5N ₂	+ 9H ₂ O	(4.9)
Sum	:	$3NH_4^+ + 60$) ₂ +	15[H] →	1.5N ₂	+ 3H ⁺ +	12H ₂ O (4.10)

<Plant with NOx supply>

Nitrification	:	$3NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow N_2 + NO_2^- + 4H^+ + 4H_2O$	(4.11)
Denitrification	:	$NO_2^- + H^+ + 3[H] \rightarrow 0.5N_2 + 2H_2O$	(4.12)
Sum	:	$3NH_4^+ + 3O_2 + 2[H] \rightarrow 1.5N_2 + 3H^+ + 6H_2O$	(4.13)

NOx(NO/NO₂)는 암모니아 산화 미생물의 탈질 활동을 야기하는 인자이고, trace amount (NH4⁺/NO₂, 1000:1 ~ 5000:1)정도 만이 첨가된다⁵⁰⁾. 환원 등가 [H]의 50%가 전자수용체(식 4.11)인 아질산염에게 전달된다. 따라서, 이 공정의 산소 소비는 상당량이 감소된다(식 4.11과 13).

위와 같은 질소제거의 새로운 방법은 lab반응조 시스템에서 발전되었고, 이 공정은 최소의 재정적 · 기술적 노력으로 하수처리공장에 적용할 가능성을 제공 한다.



6) 공정 순서도

Fig. 3에 partial nitrification, SHARON, Anammox, Canon과 NOx process 에 대한 여러 가지 인자에 관한 순서도를 도식하였다⁵¹⁾.







Fig. 3. Flux diagrams of the partial nitrification (1), SHARON (2), Anammox (3), Canon (4), and NOx-process (5). N-compound in %(values idealized; they may vary depending on process parameter), (g) gaseous NO_2 (nitrogen dioxide).

*In the presence of oxygen the supplemented NO₂ acts as regulatory signal (not as a substrate), inducing the denitrification activity of the aerobic ammonia oxidizers).

5. 생물막

1) 생물막 형성과정 및 구조

생물막이란 매질의 표면에 형성된 미생물의 점액물질과 그 함유물을 말하는 것으로 그 구조는 Fig. 4와 같다.

매질 표면에 부착된 미생물은 영양분인 유기물, 질소, 인 등을 호기성 조건하 에 섭취해 성장하게 되어 생물막을 형성한다. 형성된 생물막은 활발한 대사작용 을 통해 수중에 존재하는 오염물질을 분해한다. 생물막이 성장을 계속하여 막이 두꺼워지면 산소가 생물막의 심층까지 도달하지 못하여 생물막 내에 혐기성층이 형성된다. 혐기성층에서는 미생물의 신진대사에 의해 유기산과 황화수소가 발생 하고, 혐기성층이 증대되어 유기물이 혐기성으로 분해가 되면 악취가 발생한다. 혐기성층에서 증식된 일부 미생물은 혐기성 상태로 분해되며, 생물막은 전단력 등에 의해 탈리되어 새로운 생물막이 형성되기 시작한다.



Fig. 4. Schematic diagram of the organic removal by the biological fixed film.

생물막 형성과정은 유기물의 흡착, 미생물의 이동과 부착, 미생물의 증식에 따 른 생물막의 탈리와 같은 과정을 거치며 이루어진다⁵²⁾.

1 단계는 흡착이며 용존 유기물이 젖은 담체 표면에 흡착하는 단계이다.

2 단계는 이동으로서 미생물 입자가 표면으로 이동하는 단계로 이동은 분자확 산, 와류, 침전 등에 기인하는데 이때 유기성 분자가 초기 Conditioning film을 형성한다.

3 단계는 부착단계로 미생물이 표면에 부착하고 이때 부착은 초기에 가역적 흡 착이고 다음에는 비가역적이 된다.

4 단계는 성장단계로서 생물막이 생성된다.

부착된 미생물이 주로 다당류로 구성된 체외 고분자물질을 분비하여 담체 표면 에 단단히 결합하고, 분비물질 위로 다양한 종들의 미생물이 군집화 된 결합체 를 형성하게 되며 여기서 미생물의 증식이나 용해성, 부유성 물질의 분해가 일 어난다.

5 단계는 탈리 과정으로서 생물막이 부분적으로 탈리되는 단계이다.

탈리는 수력에 의한 연속적 및 부분적 손실로서 생물막이 산소나 기질의 부족 때문에 깊은 내부로부터 떨어져 나가는 박리현상과 구별되어야 한다. 생물막 표 면의 탈리는 생물막 두께가 용액의 점성층 두께를 초과하면서 더 증대되는 것으 로 알려져 있다.

2) 생물막 형성의 영향인자

현재까지 밝혀진 생물막 형성의 영향인자는 크게 미생물적 요소와 환경적인 요소, 담체적인 요소로 나눌 수 있으며 세부적으로는 Table 2로 정리 될 수 있 다. 미생물의 부착과 생물막 형성의 담체적인 측면에서 보면 담체의 크기, 유형, 공극율, 표면적 등이 큰 상관관계가 있으며, 특히 담체의 공극율(porosity), 표면 의 거칠기 및 화학적 성질 등은 중요한 요소로 분류될 수 있다.



Table	2.	Variables	of	affecting	to	the	biofilm.
-------	----	-----------	----	-----------	----	-----	----------

Environment	Microorganism	Carrier	
 pH temperature ion strength contact time 	 species cell culture medium suspension medium 	 species chemical property particle size roughness porosity surface area 	

담체의 공극율은 미생물의 크기와도 상관이 있으며, 미생물이 서식할 수 있는 크기의 세공이 많이 존재할수록 유리하므로 주로 macro-pore를 가진 다공성 담 체에서 생물막이 잘 형성된다. 또한 친수성인 담체를 거칠게 하면 친수성이 증 가하여 미생물의 부착이 증가하고 소수성인 담체를 거칠게 하면 소수성이 증가 한다²³⁾. 미생물이 부착할 때 매끄러운 표면보다는 거친 표면에서 부착량이 크다 고 알려져 있으며 거친 경우에 부착에 이용될 수 있는 면적이 넓어지고, 표면의 틈은 매끄러운 표면보다 미생물이 유체의 전단력에 견디는 힘이 강하게 작용한 다. 유체의 전단력은 초기 부착을 저해하며⁵³⁾ 그 외 Harris와 Hansford⁵⁴⁾는 생물 막 두께 형성에 있어 300 mg/l 이하의 COD 농도에서는 기질이 제한인자가 되 고, 500 mg/l 이하에서는 산소가 제한인자가 된다고 보고하였다. 그러나 Rusten⁵⁵⁾에 의하면 일정한 기질부하율에서는 유입수의 농도나 체류시간이 증가 하더라도 기질제거율은 일정하므로 오히려 바람직하다고 하였다.

6. 막 결합형 생물반응조

일반적인 막 처리 시스템의 기본구성은 막 단독처리, 물리화학적 처리와의 조 합 그리고 생물학적 처리와의 조합의 3 종류로 분류할 수 있다⁵⁶⁾. 막 단독처리 는 막의 분리농축 기능만 이용하여 처리하는 것으로 집적도가 높은 중공사막 모 듈이나 spiral 막 모듈이 사용되는 해수의 담수나 정수 등이 그 예이다⁵⁷⁾. 물리화 학적 처리와 조합시킨 것으로는 응집처리 시 고액분리를 막으로 행하는 시스템 으로 분뇨 등과 같은 고농도 하수 처리에서 색도와 인을 제거할 목적으로 이용 되고 있다⁵⁸⁾. 생물학적 처리와 조합시킨 방법에서는 생물학적 처리 시 고액분리 에 막을 이용하는 방식과, 생물학적 처리의 전단에서 막의 분리 농축 기능을 이 용하여 하수를 투과액과 농축액으로 분리시킨 다음 생물학적으로 처리하는 방식 이 있다.

생물학적 처리와 조합된 방법 중 막 결합형 생물반응조 공정(membrane bioreactor : MBR)은 분리막 모듈과 생물반응조를 결합하여 생물학적 유기물 분 해 및 부유성 미생물과 처리수를 분리막에 의해 완벽하게 분리시키는 공정이다. MBR은 두 공정을 조합하는 방식에 따라 크게 교차흐름 방식(cross flow type) 과 침지형 방식(submerged type) 2가지로 나눌 수 있다. 초기에 개발되었던 1 세대 MBR은 분리막 자체의 성능이 열악하였을 뿐 만 아니라 교차흐름 여과방식 을 채택하였기 때문에 운전비용이 과다하여 세계적으로 상용화 실적이 미비했 다. 그러나 1990년대에 들어 분리막의 성능을 개선하고 에너지 효율을 크게 높 인 침지형 분리막이 2세대 MBR로 채택됨으로써 MBR의 상용화가 급격히 이루 어지게 되었다⁵⁹⁾.





Fig. 5. Schematic of membrane bio-reactors.

MBR이 가지는 장점으로는 첫째, 생물반응조로부터의 미생물 유출이 완벽히 방 지되고 SRT를 길게 운전할 수 있으므로 반응조 내 미생물을 고농도로 유지할 수 있어 양호한 수질의 처리수를 얻을 수 있다. 둘째, SRT를 길게 유지할 수 있 어 슬러지 자산화가 유도되어 슬러지 발생량이 매우 적다. 셋째, 세균이나 바이 러스의 대부분이 분리막에 의해 제거되어 별도의 소독공정이 최소화된다. 넷째, SRT가 충분히 길어지기 때문에 질산화 미생물 등 성장속도가 느린 미생물도 높 은 농도로 유지하기 쉽다.

한편 MBR 공정이 안고 있는 문제점도 있다. 첫째, 슬러지발생량이 적으므로 슬 러지 제거 시 함께 제거되는 질소, 인의 제거율이 기존 생물학적 처리공정에 비 해 낮다. 둘째, 기존 생물학적 처리시스템의 경우 처리유량의 범위가 넓어 첨두 부하에 대한 대처능력이 크지만, MBR은 분리막의 오염문제로 인하여 플럭스를 크게 하는데 한계가 있으므로 설계유량을 넘어서는 오 · 폐수가 유입될 때 대처 능력이 떨어진다. 셋째, 분리막의 오염을 저감시키기 위해 분리막 표면에서의 유 속을 크게 하고 순환펌프와 투과수를 얻기 위한 펌프의 사용으로 활성슬러지 공 정에 비해 에너지 소모량이 많다. 넷째, 슬러지 체류시간을 길게 유지하며 오랫 동안 운전할수록 미생물의 생존능력이 저하되고 무기염류 및 입자성 물질이 축 적됨에 따라 막 오염이 가속화되고 전체 공정의 처리 효율을 저하시키기도 한 다.

MBR 공정에서는 사용되는 막의 선택과 막의 성능변화에 대한 대책이 가장 중요 한데, 특히 장시간 운전 시 발생되는 막의 fouling현상은 가장 큰 문제가 된다¹⁴⁾.

또한 지금까지 수처리에서 고액분리를 목적으로 이용되는 막은 대부분 MF나 UF 막으로 가격이 비싸고 실용적인 투수량을 얻기 위해서는 동력이 필요하다는 단 점이 있다. 따라서 이러한 문제들을 해결하기 위하여 막의 종류 및 적절한 운전 조건에 대한 연구가 필요한 실정이다.

7. 부직포 여과막 생물반응조

부직포는 제조방법에 따라 차이가 있으나 일반적으로 섬유가 3차원으로 무질서 하게 배열된 다공성 구조이므로, 미생물 floc 등의 부유물은 투과과정에서 섬유 조직에 의하여 여과되거나 섬유의 표면에 쉽게 부착된다. 고가의 membrane 대 신 값이 저렴한 부직포를 여과막으로 사용하는 부직포 여과막 생물반응조 (nonwoven fabric filter bioreactor : NFBR)는 MBR에 비해 재료비 및 운전비가 적게 들 뿐만 아니라 공극율이 커서 막의 저항이 낮으므로 비교적 적은 수두차 이에서도 높은 여과율을 얻을 수 있어 가압이나 흡인을 위한 펌프시설과 막힘 현상으로 인한 역세척이 불필요하다.

NFBR에서는 미생물을 고농도로 유지할 수 있으므로 반응조의 용적을 줄이면서 도 높고 안정된 처리효율을 기대할 수 있다. 특히 부직포 표면과 pore내에 형성 되는 생물막에 의하여 용존 상태나 저분자의 유기물을 제거할 수 있다⁶⁰⁾. 또한 여과막으로 부직포를 사용할 경우 여과막 내면 및 공극에 미생물 막이 생성되어 조밀한 공극이 형성됨으로써 SS의 유실이 방지될 수 있게 된다.

Alavimoghaddam 등⁶¹⁾은 활성슬러지 시스템의 폭기조에 부직포 filter를 설치함 으로써 MLSS 농도를 8,000 mg/ℓ로 높게 유지할 수 있어 안정된 유기물 제거효 율을 얻었으며, 긴 SRT 때문에 슬러지 생산량이 적어 슬러지의 폐기가 불필요하 였다. 공경이 100 때인 nylon 재질의 부직포를 사용한 조⁶²⁾의 연구결과, BOD 및 SS 제거율이 각각 97% 및 99%를 나타내어 양호한 수질의 유출수를 얻을 수 있다고 보고되었다.

8. 미생물 고정화법

1) 고정화법의 정의 및 역사

고정화 미생물(immobilized cells)이란 어떤 일정한 공간내에 갇힌 상태로 있는 미생물을 말하며, 연속적인 반응을 행할 수 있고 반응후에 재이용할 수 있는 상태에 있는 것을 말한다. 고정화 미생물은 원래 효소를 고정화 한 것으로부터 시작되었으며, 1916년 Nilson과 Griffin이 골탄의 미분에 흡착한 효소 이소베르 타제가 활성을 유지하고 있다는 것을 발견한데서부터 발단이 되었다⁶⁸⁾. 이처럼 처음에는 효소를 고정화에 이용하다가 효소는 고정화할 때에는 정제해야만 하는 번거로움을 없애기 위해서 점차 미생물을 고정화하게 되었다. 효소나 미생물 을 고정화하는 궁극적인 목적은 유용한 물질의 생산, 미량 물질의 분석, 의료 등에 이용하려는 것으로 Table 3과 같이 여러분야에서 연구가 진행되고 있다⁸⁾. 최근에는 이러한 고정화 미생물을 이용하여 하수처리에 대한 연구가 활발히 진 행되고 있다.

Shirakami 등⁶⁴⁾은 다공질 폴리우레탄의 유동입자에 담지한 미생물 군에 의한 유기물 및 질소의 동시제거를 보고하였고, Kawamura 등⁶⁵⁾은 담체로서 앰버라이 트를 이용한 유동상에 의한 생물학적 질산화를 보고하였다.

Nilson 등⁶³⁾은 탈질균(*Pseudomonas denitrificans*)을 고정화하여 질소 제거의 가능성을 시사하였으며, Kokututa 등^{66,67)}은 질산균과 탈질균을 고정화하여 고정 화하지 않은 탈질 미생물과 비교 검토하여 고정화 탈질균의 반복처리시 처리 성 적이 우수함을 보고하였고, Hashimoto 등⁶⁸⁾ 및 Sumino 등⁶⁹⁾ 은 활성슬러지를 고정화하여 질소 제거에 관한 연구를 보고한 바 있다.

단일 효소를 고정화하여 단순 반응을 촉매시키는 것으로부터 시작한 고정화에 대한 연구는 고정화 미생물, 동식물 세포의 고정화와 응용에 관한 고정화 생체 촉매의 연구로까지 발전하였고 고정화 담체나 고정화법의 개발도 활발하게 진 행되고 있다⁸⁾.

이용분야	응용및연구				
발효공업	아미노산, 당, 핵산, 유기산, 항생물질, 스테로이드, 테르페노이드의 합성이나 변환, 호르몬, 효소 등의 생산				
식품공업	유당의 분해, 치즈, 유지, 프룩토오스, 전화당 등의 제조, 우유나 식품의 살균, 알콜 음료의 제조, 과즙 쓴맛의 제거 등				
화학공업	알콜 연료, 수소, 메탄가스의 제조, 기초 화학 공업 제품의 합성이나 변환 등				
분 석	효소전극법, 미생물전극법, 효소면역측정법 등의 임상검사 및 여러 가지 화학분석에 이용, 측정의 자동화, 간편화 등				
며 이	임상검사, 효소치료제, 인공장기 등				
환경정화	페놀, 벤젠, 시안 등의 분해, 질산 또는 아질산의 환원, BOD 측정 등				
생 화 학	효소반응기구, 효소의 기능이나 구조의 해석, 생체성분의 분리, affinity chromatography에 의한 정제, 생화학 시약의 합성 등				

Table 3. The applied range of the immobilized enzymes and microorganisms

2) 고정화법의 특성

효소가 촉매작용을 하려면 효소단백질의 일부에 기질과 상호작용을 하는 영역, 즉 활성중심 (active center)이 필요하며, 여기에는 기능이 다른 2개의 부위가 있다. 하나는 효소의 촉매로서의 반응성에 관여하는 반응부위 (reactive site) 또 는 촉매부위 (catalytic site)이며, 다른 하나는 효소반응의 기질특이성을 지배하 는 특이성부위 (specific site) 또는 결합부위 (binding site)라 불리 운다. 이들 부위는 몇 개의 아미노산 잔기로 형성되어 효소 고유의 고차구조를 지니고 있는 데, 효소가 고정화된 상태에서 촉매작용을 나타내려면 활성중심의 아미노산 잔 기가 변화를 받지 않고 고유의 고차구조를 유지해야만 한다. 이것들이 변화된

경우는 촉매작용의 저하, 또는 기질특이성 등의 효소적 성질에 변화가 생긴다. 고정화시 효소단백질중의 반응기를 변화시키지 않아야 한다. 또한 효소단백질의 고차구조는 수소결합, 소수결합, 이온결합 등 비교적 약한 결합으로 유지되고 있 으므로 효소를 고정화할 때는 고온, 강산, 강알칼리 등의 처리는 피해야 하며, 유기용매, 고농도의 염류에 의해서도 변성되거나 활성을 잃게 되기 때문에 특히 온화한 조건이 필요하다.

효소의 고정화 방법은 다음 3가지로 분류할 수 있다.

- * 담체결합법 물에 불용성인 담체에 효소를 결합시키는 방법
- * 가교법 2개 또는 그 이상의 반응기를 갖는 시약을 사용하여 효소와 효소간에 가교를 형성시켜 고정화하는 방법
- * 포괄고정화법 효소를 겔 (gel)의 미세한 격자속에 가두든지, 반투막성 폴리머의 피막으로 피복하는 방법¹⁵⁾

이들 고정화법을 Fig. 6에 나타내었다.



Fig. 6. Schematic of the immobilized method.

많은 효소는 고정화함으로써 본래의 효소보다 활성이 저하되는데 본래의 효소 보다 높은 활성을 갖는 고정화 효소를 만드는 것은 금후의 과제로 생각된다.

담체결합시, 활성저하의 원인으로 다음과 같이 생각되고 있다.

첫째, 효소단백질을 구성하는 아미노산의 반응기가 담체와 결합할 때, 활성중 심에 관여하는 아미노산과 관여하지 않는 아미노산의 구별 없이 반응한다.

둘째, 효소의 고정화로 고차구조가 변한다.

셋째, 효소분자가 활성을 잃지 않고 담체와 결합하고 있어도 담체의 입체적 장해에 의해 기질분자의 접근이 방해받는다.

첫째와 둘째의 경우는 고정화 조건을 잘 설정함으로써 활성저하를 어느 정도 막을 수 있지만, 셋째의 경우는 고정화법을 바꾸지 않는 한 피할 수 없는 것으 로 생각된다.

한편, 포괄고정화법에 의한 활성저하는 포괄할 때 효소가 변성되든지, 겔 또는 막에 의해 기질 또는 반응생성물의 투과속도가 영향을 받는 것으로 생각된다. 활성저하를 막기 위해 고정화 할 때 미리 그 효소와 특이적 친화력이 있는 저

해제, 기질 또는 반응생성물을 이용하여 효소의 활성중심을 보호한 상태로 고정 화하는 방법이 행해졌다. 즉, SH효소의 저해제인 p-히드록시 메르크릴 벤조이 트를 가하여 ATP아제의 활성중심의 설파히드릴기를 보호한 상태로 고정화한 후, 환원제로 처리하여 저해제를 제거함으로써 활성이 비교적 높은 고정화 효소 를 얻게 되었다⁸⁾.

이외에 효소의 전구물질을 고정화 및 활성화시켜 고정화 효소로 하는 방법이 시도 되었는데, 즉, 호박산을 결합한 다공성유리에 키모트립시노겐을 카르보이 미드 시약으로 펩티드 결합시켜, 이것을 트립신으로 활성화하는 것으로 활성이 높은 고정화 키모트립신을 얻을 수 있었다.

현재까지 모든 효소에 적용 가능한 이상적인 고정화법은 없고, 각각의 방법에 따라 특징이 있고 이점과 결점이 따른다. 따라서 실제로 그 효소의 이용목적에 맞는 고정화방법을 검색하여 채용하고 있는 실정으로 Table 4 에 고정화 효소 의 제법과 특성을 나타내었다.

트서		담 체 결 합	л л н	H 년	
(0 r	공유결합법	이온결합법	물리적흡착법		포 글 딥
제 법	어렵다	쉽 다	쉽 다	어렵다	어렵다
결 합 력	강하다	중 간	약하다	강하다	강하다
효 소 활 성	높 다	높 다	낮 다	중 간	높 다
기질 특이성	변 함	불 변	불 변	변	불면
재 생	불 가	가 능	가 능	불 가	불 가
제법의 보편성	중 간	높 다	낮 다	낮 다	ř 다
고정화 가격	높 다	낮 다	낮 다	중 간	낮 다

Table 4. The comparative of feature by the immobilized method

활성슬러지, 혐기성세균, 질산화세균, 탈질균, 난분해성물질 분해균 또는 중금속 축적세균 등의 특수한 세균이 고정화 미생물로서 이용되며, BOD로 대표되는 유 기물은 물론이고 질소, 인 또는 PVA, 페놀 등의 난분해성 및 독성물질, 카드뮴 등 중금속 등을 광범위한 처리대상으로 삼고 있다. 고정화재료로는 알긴산칼슘, 카라기난, 아크릴아미드, 광경화성수지, PVA(Polyvinyl alcohol)등이 널리 사용되 고 있으며, 고정화 미생물에 의한 폐수처리의 문헌을 정리하여 Table 5 에 나타 내었다.

Table 5. References for wastewater treatment by immobilized microorganisms

Meterials and method	Microorganisms	Experimental abstract		
Agar, Polyacrylamide, Carrageenan, Agar and Polyacrylamide	Alcaligenes sp.	각종 담체에 의한 탈질균의 고정화를 비교 검토.		
Carrageenan	Alcaligenes sp. Bacillus firmus sp.	고정화탈질균의 활성에 대해서 검토.		
Carrageenan	Scenedesmus quadricauda	고정화조류에 의한 질소· 인제거(반연속배양).		
Agar, Polyacrylamide, Carrageenan, Na-alginate	Activated sludge	각종 고정화담체의 비교와 연소거리 성능에 대하여 검토.		
Carrageenan	Nitrobacter agilis	아질산 함유폐수의 연속공급에 의한 질산화 반응을 검토.		
Carrageenan, Na-alginate, Photo-crosslinked resin (ENTG-3800)	Alcaligenes sp.	각종 고정화담체에 의한 폐수중의 질소제거.		
Carrageenan, Na-alginate, Photo-crosslinked resin	denitrificans	실제의 2차 처리수를 대상으로 질소제거.		
Carrageenan	Chlorella sp.	2차 처리수중의 인산제거.		
Na-alginate	Pseudomonas denitrificans	탈질 운전조건 검토.		
Ca-alginate	Methanosarcina barkeri	고정화비드에 의한 메탄 발효.		
Ca-alginate	Nitrobacter agilis Nitrosomonas europea	NO _{2,} NO ₃ 에 미치는 pH, 온도, 비드크기, 균체량의 영향을 검토(균체량은 TOC로 평가)		

To be continued

Meterials and method	Microorganisms	Experimental abstract
Agar, Acrylamide	Activated sludge	고정화비드의 특성과 합성폐수의 연속처리에 의한 정화기능에 대해서 검토.
Acrylamide	nitrificans, denitrificans	질산화균, 탈질균의 고정화에 의한 질소제거 검토.
Polyacrylic sodium	Anaerobic bacteria	고정화 미생물의 기질 투과성, 기질반응성과 혐기성처리에의 적용성에 대해서 검토.
Polyacrylamide	Citrobacter sp.	카드뮴 섭취에 대해서 검토.
Polyacrylamide-hydrazid	Pseudomonas sp.	페놀분해성에 대해서 검토.
PVA	Activated sludge	고정화조건과 합성하수의 연속처리에 의한 정화기능 검토.
PVA	Phenol degrading bacteria	페놀합성폐수의 연속처리에 의한 고정화 페놀 분해균의 정화기능 검토.
Photo-crosslinked resin	denitrificans	고정화재료의 물성, 최대 탈질 활성에 대해서 검토.
Photo-crosslinked resin	nitrificans	합성 암모니아 폐수의 질산화.
Polyelectrolyte complex	Nitrosomonas europea	미생물 고정화 담체의 성능평가와 아질산생성 속도에 대해서 검토.
Polyelectrolyte complex	Paracoccus denitrificans	고정화 미생물의 탈질 속도와 활성에 대해서 검토.

3) 포괄고정화법의 원리

하수에 있어 반응조중에서 정화력을 인공적으로 효율 좋게 진행시키는 하수처 리법으로 생물막법이 있다. 생물막의 형성은 자연적으로 부착하기 쉬운 균이 우 점종이 되고 정기적인 역세시기를 놓치게 되면 내부가 혐기적으로 되고 생물막 이 떨어져서 나중에는 처리조내의 생물보존량이 적게 되고 처리성능이 저하하 는 단점이 있는데 이러한 결점을 개선하기 위해 포괄고정화법을 도입하게 되었 다.

포괄고정화법에서는 비드 내부에 미생물이 갇혀 있어서 임의의 균을 임의의 균체량으로 고정화 할 수 있다. 이 때문에 균체의 박리에 의한 균체의 감소는 없으며 균체보존량은 대체로 안정하다.

포괄고정화법은 하수중의 유기물 및 질소, 인 등은 비드를 투과하여 미생물에 의해 섭취된다. 비드의 소공 크기는 재질에 따라 달라지며, 활성슬러지의 간극 은 재질의 투과성과 통기성이 좋은 비드로 형성되어 있기 때문에 생물막에 비 해 혐기성이 되기 어렵다⁸⁾.

미생물 보존량은 비드 내부에 100,000 mg/ℓ까지 가능하다. 또한 특정한 균 으로서 Nitrosomonas, Nitrobacter 등의 질산화균, 메탄균, 혐기성균, 그리고 시 안균 등을 고정화에 이용할 수 있다. 슬러지발생량은 종래의 활성슬러지법 보다 적다고 보고되고 있다¹⁵⁾. 슬러지발생량 저감의 매카니즘으로서는 아직 확인된 이론은 아니지만, ① 비드로부터 균이 누출되지 않기 때문에 슬러지단이 길게 증식하여 균의 자기 소화가 쉽다. ② 비드내부에 증식환경이 다르기 때문에 균 체 생성을 위한 ATP수율이 저하하므로 균체 생성량이 저하된다고 보고된다.

4) 포괄고정화 재료 및 조건

포괄고정화법은 의약, 식품공업에서 이미 실용화된 기술로서 여기에 사용하는 재료는 천연 유기 고분자인 카라기난과 알긴산, 그리고 합성 고분자인 아크릴아미 드, 폴리에틸렌글리콜 등이 있다. 천연 고분자 재료는 미생물에 대한 독성이 작 고 저렴하나 미생물에 의해 분해되기 쉬워 내구성이 약하다는 결점을 가지고 있 다¹⁵⁾.

이에 반해 합성 고분자는 미생물에 대한 독성이 있고 약간 고가이지만 미생물 에 의한 분해성이 약하여 내구성이 뛰어나다. 운전비용을 줄이기 위해서는 장기 간 사용에 견딜 수 있는 합성고분자가 좋을 것으로 사료된다. 이 밖에 비드 재 료에 요구되는 조건으로는 다음과 같은 것이 있다.

기질 및 산소투과성이 좋아야 하고, 미생물 누출, 침입이 적고 안정성이 양호해 야 하며, 상온, 상압에서 고정화가 가능해야하고, 조립조작이 용이하고, 처리처 분이 용이해야하는 조건 등이 있다.

Ⅲ. 실험방법 및 재료

1. 고정화 미생물

1) 실험재료

가) 균주

본 실험에 사용한 균주는 김 등¹⁰⁾이 토양에서 분리한 *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3이다. 이 균은 1.0% glucose와 0.5% glucose를 배지에 첨 가한 조건에서 모두 0.1% NH₄NO₃를 완전히 제거 가능하며, 균의 활성을 높이기 위해 배지에 Cu²⁺, Sn²⁺, Zn²⁺를 첨가함으로써 0.3% NH₄NO₃도 제거 가능하다. 또한 본 균은 *heterotrophy*이지만 혐기성 및 무 유기물 조건에서 NH₄ 및 NO₃를 제거할 수 있다.

또 하나의 다른 균주는 *Klebsiella pneumoniae*로써 이 균주 역시 호기적 조건에서 4 mg/ml 의 NH₄NO₃을 48 시간 만에 제거할 수 있는 것으로 알려졌다.⁷⁰⁾

나) 합성배지

균주 배양에 사용한 분해배지의 조성은 Table 6과 같으며, FeCl₃·6H₂O와 NH₄NO₃는 별도로 조제하여 autoclave로 살균(121℃, 15min)한 후 사용하였다⁷¹⁾.



Table 6. Composition of medium for the growth of *P. aeruginosa* AE-1-3 and *K. pneumoniae*

Components	Concentration	Remarks	
Glucose	30 g/l	Carbon Source	
NH ₄ NO ₃	1 g/l	Nitrogen Source	
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O KH ₂ PO ₄	15 g/l 3 g/l	Phosphorus Source	
NaCl MgSO4·7H2O FeCl3·6H2O Na2MoO4·2H2O	0.5 g/l 0.2 g/l 27.03 mg/l 2 mg/l	Minerals	

다) 균주의 배양

Table 6의 배지에 Agar1.5%를 첨가하여 만든 고체배지에 *P. aeruginosa* AE-1-3와 *K. pneumoniae*균을 접종하여 하루이상 배양하였다. 배양된 균을 10 ml의 액상배지에 접종하여 12시간동안 배양한 후 다시 새로운 10 ml 액상배지 에 전 배양액 1%를 접종하여 12시간 동안 배양하였다. 고정화에 사용하기 위한 배양은 500 ml 삼각플라스크에 150 ml의 배지를 넣고 *P. aeruginosa* AE-1-3 와 *K. pneumoniae*균 전 배양액 1%를 접종하여 30℃에서 140rpm으로 진탕배양 한 후 원심분리기(한일과학)로 원심분리(3000rpm, 15분)하여 집균하였다

라) 고정화 재료 및 방법

본 실험에 사용한 고정화 재료는 PEG-1000(Shin-Nakamura Chemical, wakayama)이며, 가교제는 N,N'-methylene-bis-acrylamide(Wako Pure Chemicals, osaka)이고, 촉진제는 N,N,N',N'-tetramethylethlene-diamine (Tokyo Kansai Co.)이고, 개시제는 potassium persulfate(Kanto Chemical Co.) 이다. 이 고정화 재료는 천연고분자인 알긴산 또는 카라기난보다 강도가 높아서 폭기나 교반에 대해서 안정하다⁹⁾.

고정화 미생물 제조과정은 Shumino 등⁶⁹⁾의 방법을 적용하여 Fig. 7와 같이 제 작하였다. 제작된 비드의 모습은 Fig. 8에 나타내었다. 즉, 고분자 물질 PEG 9%에 대해서 가교제는 0.5%, 촉진제는 0.25%의 비율로 혼합하여, 이 혼합물에 원심분리(3000 rpm, 5 min, 25 °C)한 *P. aeruginosa* AE-1-3와 *K. pneumoniae* 균 현탁액 10%을 혼합한 후 개시제 0.25%을 넣어 플레이트에 시트형으로 넣고 10분 동안 방치 한 후 직경 3 mm로 자른 후 흐르는 물에서 세척한 후 합성하 수를 사용하여 2주간 순화시켜서 회분식 실험 및 연속식 실험에 사용하였다.



Fig. 7. Procedure for immobilization of *P. aeruginosa* AE-1-3 and *K. pneumoniae*





Fig. 8. Photograph of bead for immobilized microorganisms.



Fig. 9. Scanning electron micrograph before (A) and after (B) immobilized on PEG 60 days.

2) 실험장치

가) 회분식 실험장치

PEG고정화 활성슬러지 실험장치는 Fig. 10과 같다. 원통형으로 반응기 용량은 1 ℓ이며 반응조내의 완전혼합을 위해서 상향류식 공기주입 장치를 제작하였다. 반응기의 공기주입은 확산기를 이용하였다. 또한 pH는 0.1N NaOH와 0.1N HCI 을 사용하여 pH 8.0으로 조절하였고, 실험은 25±2 ℃가 유지되는 항온실에서 수행하였다.

나) 연속식 실험장치

연속식 실험장치는 Fig. 11과 같다. 반응기의 주요 구성 장치는 반응기와 공기 주펌프(MEDO, LA 100) 및 Feed tank이며 그 외 부속장치로는 합성하수 주입펌 프와 반송펌프, 교반기, 산기관을 설치하였다.

질산화를 위한 장치는 원통형의 투명 아크릴를 이용하여 제작하였고, 반응조 부 피는 2 ℓ이며, 비드 충진율은 30%이다. pH는 pH 8.0으로 조절해 주었고, HRT 는 24시간에서 12시간, 6시간으로 변화시켜서 실험을 수행하였다.

라) 고정화 P. aeruginosa AE-1-3과 활성슬러지 조합 실험장치

고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3과 활성슬러지를 조합하여 질소제거를 위한 실험 장치는 Fig. 12 과 같이 3개의 실험장치를 사용하였다.

Fig. 12 의 Type A는 앞단에 활성슬러지 반응조를 설치하고 뒤에 고정화 비드 를 충진한 반응조를 설치하였다. 활성슬러지의 반응조는 5ℓ용량이며 유입수 주 입을 위한 펌프, 폭기기 등으로 구성되어 있고 활성슬러지 반응조내에는 MLSS 로 3,000 mg/ℓ이 되도록 활성슬러지를 주입하였다. 고정화 비드를 충진한 반응 조 역시 5ℓ용량이며 반응조내에는 폭기기를 설치하여 호기적으로 운전이 되도록 하였으며 고정화 비드의 충진율은 20%이다.

Fig.12에 Type B는 Type A에서 나타낸 실험장치의 역순, 즉, 앞단에 고정화 비드를 충진율20%를 충진한 반응조를 설치하고 뒷단에 활성슬러지 반응조를 설 치한것을 제외하면 Type A의 장치와 같다.

Fig.12의 Type C는 활성슬러지와 고정화 비드를 충진한 반응조이며 용량은 5*l* 이다. 주입한 활성슬러지 농도는 3,000 mg/*l*이고 고정화 비드20%를 충진하였다. 반응조내에 폭기기를 설치하여 호기성 상태에서 운전하였다.





- 1. Air pump 2. Power supply
- 3. Diffuser 4. Reactor
- Fig. 10. Schematic diagram of the experimental apparatus for batch reactor.





1. Air pump	2. Effluent	3. Diffuser
4. immobilized bead reactor	5. Feed pump	6. Influent

Fig. 11. Schematic diagram of the experimental apparatus for continuous system.



1. Air pump

- 2. Effluent

- 4. activated sludge reactor

- 5. Feed pump
- 6. Influent

- 7. immobilized bead reactor
- Fig. 12. Schematic diagram of the experimental apparatus for continuous system.

3) 실험방법

① 고정화 K. pneumoniae의 충진율에 따른 NO3-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 10~50%가 되도록 주입 하였으며 질소원으로는 NaNO₃를 사용하여 NO₃-N 50 mg/l이 되도록 하였다. C/N비는 10이고, 반응조에 공기를 주입하여 호기적으로 실험을 수행하였다.

② 고정화 K. pneumoniae의 C/N비에 따른 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 50 mg/ℓ이고 C/N비는 2.5~10이 되도록 조절하였으며 반응조에 공기를 주입하여 호기적으로 실험을 수행하였다.

③ 고정화 K. pneumoniae의 초기 NO₃-N 농도에 따른 NO₃-N제거 실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 25~200 mg/l이고 C/N비는 10이다. 반응조에 공기를 주입하여 호기적으로 실 험을 수행하였다.

④ 고정화 K. pneumoniae의 탄소원에 따른 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 50 mg/ℓ이고 C/N비는 10이다. 탄소원으로는 glucose와 acetate 및 methanol을 사용하였다. 반응조에 공기를 주입하여 호기적으로 실험을 수행하였다.

⑤ 고정화 K. pneumoniae의 온도에 따른 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 50 mg/ℓ이고 C/N비는 10이다. 온도는 10℃, 20℃, 30℃로 하였으며 반응조에 공기 를 주입하여 호기적으로 실험을 수행하였다.

⑥ 고정화 K. pneumoniae의 C/N비에 따른 NO₃-N제거(무산소조건) 실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 50 mg/l이고 C/N비는 2.5~10 이되도록 조절하였으며 반응은 공기를 주입하는 대 신 교반만을 행하였고 무산소 상태로 유지하기 위해 반응조 윗부분에 대기로부 터 공기가 유입되지 않도록 뚜껑을 하였다.

⑦ 고정화 K. pneumoniae의 탄소원에 따른 NO₃-N제거(무산소조건) 실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 50 mg/l이고 C/N비는 10이다. 탄소원으로는 glucose와 acetate 및 methanol을 사 용하였다. 반응은 공기를 주입하는 대신 교반만을 행하였고 무산소 상태로 유지 하기 위해 반응조 윗부분에 대기로부터 공기가 유입되지 않도록 뚜껑을 하였다.

⑧ 고정화 *K. pneumoniae*의 초기 NO₃-N 농도에 따른 NO₃-N제거 (무산소조건)

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 20%를 충진하였으며, NO₃-N농도는 25~200 mg/l이고 C/N비는 10이다. 반응은 공기를 주입하는 대신 교반만을 행하였고 무산소 상태로 유지하기 위해 반응조 윗부분에 대기로부터 공기가 유입되지 않도록 뚜껑을 하였다.

⑨ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 균체농도에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

고정화시 균체의 양은 2-10g이며, 질소원으로는 NH4NO3를 사용하여 NH4-N 및 NO3-N농도가 각각 50 mg/l이 되도록 하였으며 C/N비는 10이다. 반응조에 고정화 비드를 넣은 후 호기성 상태가 되도록 공기를 주입하였다.

⑩ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 고정화 비드크기에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

고정화 비드를 2mm,3mm 및 5mm의 크기로 제조하여 회분식 반응조에 주입하 였으며 NH4-N 및 NO3-N 농도는 각각 50 mg/ℓ이다. C/N비는 10이다. 반응조 에 고정화 비드를 넣은 후 호기성 상태가 되도록 공기를 주입하였다.

① 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 충진율에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 10~50%가 되도록 주입 하였으며 NH4-N 및 NO3-N 농도는 각각 50 mg/ℓ이고 C/N비는 10이다. 반응조에 고정화 비드를 넣은 후 호기성 상태가 되도록 공기를 주입하였다.

⑫ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 C/N비에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 20%가 되도록 주입하였 으며 NH₄-N 및 NO₃-N 농도는 각각 50 mg/ℓ이고 C/N비는 2.5~10이 되도록 조절하였다.

반응조에 고정화 비드를 넣은 후 호기성 상태가 되도록 공기를 주입하였다.

⑬ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 탄소원에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 20%가 되도록 주입하였 으며 NH₄-N 및 NO₃-N 농도는 각각 50 mg/ℓ이고 C/N비는 10이다. 탄소원으로 는 glucose와 acetate 및 methanol을 사용하였다.

반응조에 고정화 비드를 넣은 후 호기성 상태가 되도록 공기를 주입하였다.

⑭ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 pH에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N 제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 20%가 되도록 주입하였 으며 NH4-N 및 NO3-N 농도는 각각 50 mg/l이고 C/N비는 10이며 pH는 6,7,8,9가 되도록 조절하였다.

⑤ 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 온도에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거

실험은 회분식 반응조에 고정화 비드를 반응조 용적의 20%가 되도록 주입하였 으며 NH₄-N 및 NO₃-N 농도는 각각 50 mg/ℓ이고 C/N비는 10이며 실험은 1 0℃, 20℃, 30℃에서 수행하였다.

2. 부착 미생물

1) 균주 배양 및 생물막의 형성

Table 6의 배지성상에 1.5% Agar를 첨가하여 만든 고체배지에 Pseudomonas aeruginosa 균을 접종하여 하루이상 배양한다. 두 번째 단계로, 배양된 Pseudomonas aeruginosa 균을 10 ml 액상배지에 접종하여 12시간 배 양(30℃, 140rpm)한다. 세 번째 단계는 다시 새로운 10 ml 액상배지에 전 배양 액 1%를 접종하고 12시간 배양한다. 정 등⁷¹⁾의 연구결과 Pseudomonas aeruginosa가 C/N비 5 이상일 때 NH₄-N와 NO₃-N가 동시제거 가능하다는 결과에 따라, Table 6의 배지성상이 C/N비 5가 되도록 만든 배지를 500 ml 삼각플라스크에 150 ml 넣은 후, Pseudomonas aeruginosa 전 배양액 1%를 접종하여 30℃, 140rpm으로 진탕 배양하였다. 마지막 단계로서 24시간 동안 진탕 배양 후, 원심 분리(15min, 8000rpm)하여 현탁액은 버리고 남은 미 생물을 반응조 내에 주입하였다.

2) 실험장치

본 연구에 사용된 실험장치는 Fig. 13에 나타낸 바와 같이 부직포 여과막 생 물반응조, 하수 주입을 위한 펌프, 폭기기 또는 교반기 등으로 구성되었다. 투명 한 아크릴 수지로 제작한 반응조는 가로 13 cm, 세로 18 cm, 높이 24 cm로 유효용적이 5 ℓ인 직육면체이다. 부직포의 유효면적은 각각 0.02 m²로 반응조 내에 2단으로 설치하여 실험하였다. 반응조 내부를 호기성 상태로 유지하기 위 하여 반응조 내부 바닥에 산기관을 설치하였으며, 무산소 조건 시에는 원활한 순환을 위하여 교반기를 설치하였다. 합성하수는 정량펌프를 사용하여 일정한 유속으로 연속적으로 공급하였다.



Fig. 13. Schematic diagram of the experimental system.

3) 실험방법

본 실험은 Fig. 13의 장치를 질소원별 및 동일 질소원의 조건 변화별로 총 6개의 반응조를 대상으로 수행하였으며, 반응조 내에 부직포를 2단으로 설치하 여 유기물과 질소제거 효율을 비교 실험하였다.

합성하수는 유량 5 l/day로 HRT 24시간으로 하여 반응조 상부에 일정한 유 속(3.47 ml/min)으로 연속 주입하였다. 합성하수의 C/N비는 5이며 NH₄-N와 NO₃-N의 농도가 각각 50 mg/l이다. 실험에 사용된 합성하수의 특성을 Table 7 에 나타내었다. 탄소원은 질소제거 박테리아 *Pseudomonas aeruginosa*가 glucose를 사용하였을 때 NH₄-N와 NO₃-N의 동시제거가 가능하다는 연구 결과 ¹⁰⁾에 따라 glucose를 사용하였다. 사용한 질소원은 NH₄NO₃, NaNO₃ 및 NH₄ClOl 며, 질산화에 요구되는 알칼리도를 충분히 공급하기 위하여 NaHCO₃를 첨가하였 다.



Components	Concentration				
Glucose	1.25 g/ℓ (NH₄NO₃ 일 때) 0.625 g/ℓ (NaNO₃, NH₄CI 일 때)				
NH ₄ NO ₃	0.286 g/l				
NaNO ₃	0.3 g/ <i>l</i>				
NH ₄ Cl	0.19 g/l				
NaHCO ₃	0.234 g/l				
KH ₂ PO ₄	0.02 g/l				
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.01 g/l				
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.38 mg/ <i>l</i>				
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05 g/l				
NaCl	4.7 mg/ <i>l</i>				
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	2 mg/ <i>l</i>				

Table 7. Composition of synthetic wastewater.

본 실험은 Table 8에 나타낸 실험조건 하에서 반응조를 운전하였다. 활성을 러지에 *P. aeruginosa*를 혼합한 것과 *P. aeruginosa* 단독일 때의 질소제거 효과 를 비교하였고, 각 반응조에 NH4NO3, NaNO3 및 NH4Cl 3가지의 질소원을 사용 하여 질소원에 따른 유기물과 질소제거율도 검토하였으며 호기 · 무산소 조건에 따른 상태변화 등도 검토하였다.

활성슬러지는 하수처리장의 반송슬러지를 사용하였고, 질소제거 박테리아 Pseudomonas aeruginosa는 해당되는 반응조에 1 ℓ씩 주입하였다. 반응조 I ~ V는 호기 조건에서 운전하였다. 호기성 상태를 유지하기 위해서 반응조 내부 하단에 폭기기를 설치하였다. 처리수는 부직포 생물막을 통과하여 유출되었으며, 유출수는 수집하여 원심분리(15min, 8000rpm)한 후 분석하였다.



Reaction tank	I			IV	V
aerobic / anoxic	aerobic	aerobic	aerobic	aerobic	anoxic~ aerobic
Nitrogen Source	$\rm NH_4NO_3$	$\rm NH_4NO_3$	NH4CI	NH4CI	NH ₄ NO ₃
activated sludge	used	unused	used	unused	unused
P. aeruginosa	used	used	used	used	used
HRT	24hr	24hr	24hr	24hr	24~6hr
T−N (mg/ℓ)	100	100	50	50	100

Table 8. Operation conditions.
3. 분석방법

회분식 및 연속식 실험에 사용된 분석항목 및 분석방법을 Table 9에 나타내었 다. 실험 및 분석방법은 수질오염공정시험법⁷²⁾에 의거하여 분석하였다.

Table	9.	Analytical	methods	and	parameters.
					p

ltems	Analytical methods		
рН	pH meter, TOA HM-14P		
DO	DO meter, TOA DO-14P		
COD _{Mn}	KMnO ₄ titration method		
MLSS	Filtration-Evaporation method		
MLVSS	Filtration-Evaporation method		
T-N	UV Spectrophotometric method		
NH ₄ -N	Indophenol method		
NO ₂ -N	Diazoha method		
NO3-N	UV Spectrophotometric method		
SEM	Japan, JEOL, JSM 840-A		

Ⅳ. 결과 및 고찰

1. 고정화 K. pneumoniae를 이용한 질소제거

1) 충진율에 따른 NO₃-N제거

Fig. 14은 *K. pneumoniae*를 고정화 한 후 고정화 비드의 충진율에 따른 NO₃ -N제거 변화를 나타낸 것이다. 초기 NO₃-N 농도는 약 50 mg/l이며 반응조 용적은 500 ml이고, 고정화 비드 충진량은 반응량의 10~50%이다. C/N비는 10 이 되도록 조절하였으며 호기성 상태가 되도록 반응조내에 디퓨져를 설치하여 공기를 공급하였다.

반응 6시간째, 고정화 충진량이 많을수록 NO₃-N이 빠르게 제거되는 경향을 보 이고 있으며 이 시간에서 NO₃-N은 충진량 50%일 때 9.0 mg/*l*, 30%일 때 14 mg/*l*, 20%일 때 18 mg/*l*, 10%일 때 21 mg/*l*로 NO₃-N제거에 있어서 다소 차 이를 나타냈으나 반응 48시간째에는 충진량 30%나 50%에서 각각 6.2 mg/*l*과 6.4 mg/*l*로 별차이가 나지 않았으며 또한 10%나 20%를 충진한 경우에도 11.2 mg/*l*와 11.4 mg/*l*로 비롯한 NO₃-N제거를 보이고 있다.

고정화 비드 충진량에 따라 비례하여 NO₃-N제거율이 증가하지 않았으나 충진 량이 많을수록 30%와 50%일 때 NO₃-N이 빠르게 제거되었고, 또한 NO₃-N 제 거율도 높았다. 이것은 고정화 비드 충진량이 많을수록 균체량이 많기 때문인 것으로 사료된다.

정 등⁷³⁾은 고정화 활성슬러지를 사용하여 합성하수 중의 질소를 제거할 때 고 정화 비드 주입량이 많을수록 NH₄-N가 빠르게 제거됨을 나타낸바 있으며, 박 등⁷⁴⁾도 한천 아크릴아미드로 포괄 고정화한 미생물을 사용한 PVA처리특성 연구 에서 PVA처리율은 반응기에 주입한 고정화 비드양에 비례하지는 않았으나 주입 량이 많을수록 처리효율이 높음을 보고한바 있다. 그러나 반응조 내에 비드 충 진양을 30%나 50%로 유지하기 위해서는 약품값이 과다하게 소요되므로 이후의 실험에서는 비드 충진율을 20%로 하여 회분식 실험을 수행하였다.



Fig. 14. Effect of amount of immobilized bead on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

2) C/N비에 따른 NO₃-N제거

Fig. 15는 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 C/N비에 따른 NO₃-N제거 변화 를 나타낸 것이다. C/N비는 2.5에서 20이 되도록 합성하수 중의 glucose양을 조절하였다. 초기 NO₃-N농도는 50 mg/l이며 고정화 비드 충진율은 20%이고 호기적으로 반응하였다.

C/N비 2.5에서 NO₃-N는 반응 48시간 일 때 38.0 mg/ℓ (제거율 27.8%)까지 만 제거되었고, C/N비 5에서는 25.7 mg/ℓ (제거율 52.6%), C/N비 10에서는 5.8 mg/ℓ (제거율 88.8%), C/N비 20에서는 0.4 mg/ℓ (제거율 99.2%)로, C/N 비가 높을수록 NO₃-N제거율이 높았다.

본 실험의 고정화에 사용한 *K. pneumoniae*는 NH₄NO₃을 완전히 제거하기 위 해서 C/N비가 중요하며 4 mg/l의 NH₄NO₃를 48시간만에 완전히 제거하는데 100 mg/l의 glucose가 필요함을 보고한바 있다¹¹⁾. 김⁷⁵⁾ 역시

K. pneumoniae를 사용하여 C/N비 2.5에서 34.3까지 조절하여 호기적으로 합성 하수 중의 NO₃-N를 제거하기 위한 실험에서 C/N비 2.5~10까지는 NO₃-N제거 시 lag time이 비슷하지만 C/N비 20과 30에서는 lag time이 길어지는 경향을 보였으며 C/N비 2.5인 경우에는 반응 24시간째 탄소원의 부족으로 41.3%의 제 거율을 나타냈으나 C/N비 5~34.3에서는 모두 98%이상의 제거율을 나타낸 바 있다.

이와 같이 고정화 하지 않은 *K. pneumoniae*를 사용한 경우에는 반은 24시간 만에(C/N비 2.5 제외) 350 mg/l의 NO₃-N를 제거하였으나⁷⁵⁾ 고정화 *K. pneumoniae*를 사용한 경우에는 C/N비 20에서만 NO₃-N 50 mg/l를 안전히

제거하였으며 C/N비 10에서는 86.4%만 제거 되었다.



Fig. 15. Effect of C/N ratios on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at aerobic condition.

3) 탄소원에 따른 NO₃-N제거

Fig. 16에는 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 탄소원에 따른 NO₃-N의 제거 변화를 나타내었다. 고정화 비드 충진율은 20%이며 C/N비는 10이다. 탄소원으 로는 glucose, acetate 및 methanol을 사용하였다.

Glucose를 탄소원으로 사용할 경우, 반응 12시간만에 NO₃-N가 10.7 mg/l까 지 제거된후 거의 평형상태를 유지하여 반응 48시간째에는 9.4 mg/l (약 79.4% 의 제거율)에 머물렀다. 그러나 메탄올을 탄소원으로 사용한 경우에는 반응 48 시간에도 NO₃-N가 40.2 mg/l이나 잔존하여 19.6%밖에 제거하지 못했다. 초산 을 탄소원으로 사용한 경우에는 반응시간에 따라 24시간 까지는 점차 감소하는 경향을 보였으나 반응 48시간일 때에는 16.1 mg/l로 약 67.8%의 제거율을 나 타내었다. 이와 같이 탄소원으로써 glucose를 사용하는 경우에는 원래 고정화에 사용한 *K. pneumoniae*가 glucose에 순화되었기 때문에 당연히 탄소원으로써 이용 가능하였으나 메탄올을 사용한 경우에는 탄소원으로써 이용하기가 어려울 것으로 사료된다.

김의 연구⁷⁵⁾에서도 *K. pneumoniae*를 사용하여 탄소원에 따른 NO₃-N제거실험 을 한 결과 glucose는 탄소원으로 이용 가능하였으나 에탄올은 이용하지 못했으 며 더욱이 메탄올을 탄소원으로 사용한 경우에는 배지에서 박테리아가 증식하지 않음을 보고한 바 있다.

일반적으로 활성슬러지를 사용한 질소 제거시에는 탄소원으로써 메탄올을 첨가 하는 경우가 많은데 김 등⁷⁶⁾은 COD/NO₃-N비가 3.0일 때 NO₃-N제거효율이 93%임을 보고한바 있고 안 등⁷⁷⁾은 C/N비 5~10에서 96%의 총질소 제거효율을 보였으나 C/N비 3과 2.8에서는 각각 83%와 81%를 나타낸 바 있다.

정 등⁷⁸⁾은 토양컬럼을 사용한 질소제거에 관한 연구에서 탄소원이 부족한 경 우 메탄올을 C/N비 4.4이상이 되도록 조절한 결과 안정적인 탈질효과를 보고한 바 있다. 이와 같이 활성슬러지를 질소제거에 사용하는 경우 탄소원으로써 메탄 올이 이용가능하나 본 실험에 사용한 *K. pneumoniae*는 메탄올을 탄소원으로써 이용하지 못하였다.



Fig. 16. Effect of different carbon sources on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

4) 초기 NO3-N농도에 따른 NO3-N제거

Fig. 17에는 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 초기 NO₃-N농도에 따른 NO₃-N 제거 변화를 나타내었다. C/N비는 10 이며, 고정화 비드 충진양은 20%이다. 초기 NO₃-N농도는 24.6~180.8mg/ℓ이다.

초기 NO₃-N농도 24.6 mg/ℓ인 경우 반응 6시간 일 때 10.5 mg/ℓ까지 제거 되었으나 이후 48시간 까지 그대로 유지되었으며, 초기농도 46.0mg/ℓ인 경우에 는 반응 12시간 일 때 9.3 mg/ℓ까지 제거된 후 마찬가지로 반응 48시간까지 변 동이 없었다. 초기농도 102.6 mg/ℓ인 경우에는 18시간일 때 17.6 mg/ℓ까지 제 거되었으며 180.8 mg/ℓ인 경우에는 30시간 일 때 13.9 mg/ℓ까지 제거된 후 큰 변동이 없었다.

이와 같이 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하였을 때 본 실험의 농도 범위인 180.8 mg/l에서 NO₃-N가 93.1%정도 제거됨을 알 수 있었다.

한편, 김 등⁷⁵⁾은 고정화하지 않은 *K. pneumoniae*를 사용하여 초기 질소 농도에 따른 NO₃-N 제거 연구에서 NO₃-N 700 mg/*l*까지도 15시간만에 제거되는 것을 보고한 바 있다. 이처럼 *K. pneumoniae*를 고정화하지 않고 사용하는 경우에는 고 농도(NO₃-N, 700 mg/*l*)의 NO₃-N도 15시간 만에 제거 가능하지만 본 균을 고정 화 하였을 경우에는 NO₃-N 농도 180.8 mg/*l* 일때도 제거되는데 30시간이 소요되 었다. 이것은 박테리아를 고정화하면 고정화 비드내로 기질 및 산소 확산 저항이 크기 때문에 고정화 K. *pneumoniae*가 고정화하지 않은 경우보다 NO₃-N제거 효율 이 저하되는 것으로 사료된다. 김 등⁷⁹⁾도 광경화성 수지에 고정화된 활성슬러지에 의한 페놀 분해 연구에서 free 활성슬러지가 고정화 활성슬러지 보다 기질과 산소 확산 저항이 적기 때문에 페놀 분해가 빠른 것으로 보고한 바 있다. 또한 이들 데 이터를 사용하여 Lineweaver-Burk plot을 작성하였으며 이 plot으로부터

Michaelis-Menten 정수 (반속도정수) Km과 최대 반응속도 V_{max}을 구할 수 있다. (Fig.18) 고정화 *K. pneumoniae* 사용하였을 때의 반속도정수 K_m값은 1.633 mg/l이었다. 한편, 김 등⁷⁵⁾도 고정화 하지 않은 *K. pneumoniae* 를 사용하여 K_m 값을 구한 결과 K_m값은 0.925 mg/l 로 본 실험의 결과와 비교해 볼 때 고정화 하 였을때의 K_m값이 높음을 알 수 있다. 여기에서 K_m값은 원래 효소와 기질간의 화 학친화력의 관계를 나타내는 것으로써 K_m값이 작을수록 친화력은 크다. 이와 같이

균체를 고정화 함으로써 K_m값이 변화하는 것은 고정화 비드내에서의 기질 또는 생 성물의 확산이 율속단계가 되기 때문에 겉보기 K_m값이 증대되는 것으로 생각 할 수 있으며 본 실험의 결과와 같이 고정화 균체가 고정화 하지 않은 균체보다 K_m값 이 큰 것은 고정화 비드내로 기질확산 저항이 커서 기질에 대한 친화성이 작기 때 문인 것으로 사료된다.



Fig. 17. Effect of initial NO₃-N concentration on the removal of NO₃-N by immobilized *Klebsiella pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 18. Lineweaver-Burk plots for immobilized K. pneumoniae.

5) 온도에 따른 NO₃-N제거

Fig.19 에는 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 온도에 따른 NO₃-N제거 변화 를 나타내었다. 온도는 10℃, 20℃, 32℃이며, C/N비는 10, 고정화 비드의 충진 율은 20%이다. 반응온도 32℃인 경우 반응 12시간만에 NO₃-N가 2.41 mg/ℓ까 지 제거되어 95.1%의 제거율을 보였으며, 반응온도 20℃에서는 반은 12시간째 11.3 mg/ℓ(76.8%의 제거율)까지 제거되었고, 반응온도 10℃인 경우에는 반응 24시간 일 때 16.9 mg/ℓ(65.3%의 제거율)까지 제거되어 반응온도가 높을수록 NO₃-N제거효율이 높았을 뿐만 아니라 저온인 10℃에서도 65.3%의 제거효율을 나타내었다.

본 실험의 고정화에 사용한 *K. pneumoniae*는 원래 30℃에서 배양해왔던 것으 로써 30℃에서 NO₃-N제거효율이 가장 높았으나 10℃이하에서는 NO₃-N제거효 율이 50%이하였다.

따라서 본 균을 고정화 하면 10℃의 반응온도에서도 65.3%이상의 제거효율을 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 이처럼 박테리아를 고정화하여 저온(10℃)에서 사용하여도 NO₃-N의 제거효율이 높은 것은 이에 대한 고찰은 좀 더 많은 연구 를 통하여 입증해야 하겠지만 포괄고정화 비드내에 서식하는 미생물의 경우 일 반 활성슬러지나 생물막에 붙어있는 미생물에 비해 담체라는 보호막을 갖고 있 기 때문에 외부환경에 덜 민감하기 때문인 것으로 사료된다.



Fig. 19. Effect of different temperatures on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

6) C/N비에 따른 NO3-N제거(무산소 조건)

Fig. 20에는 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 무산소 조건에서 C/N비에 따 른 질소제거 변화를 나타내었다. 초기 NO₃-N농도는 50 mg/l이며, 고정화 비드 충진율은 20%이고, C/N비는 2.5~20이다.

고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 무산소 조건에서 반응하였을 때 본 실험의 C/N비 조건인 2.5~20에서 NO₃-N는 12시간만에 모두 제거되었다. Fig. 15 의 실험 즉 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 호기적으로 반응하였을때는 C/N비 가 높을수록 NO₃-N제거율이 높았으며 특히 C/N비 2.5에서는 27.8%만 제거되 었고 C/N비 5에서도 52.5%만 제거되었으나 본 고정화 박테리아를 무산소 조건 에서 배양한 경우에는 C/N비 2.5에서는 12시간만에 제거되었다. 이와같이 고정 화 *K. pneumoniae*를 사용하며 NO₃-N를 제거하기 위해서는 호기적으로 반응하 는 것 보다는 무산소 조건에서 반응하는 것이 낮은 C/N비에서도 효율적임을 알 수 있었다.

일반적으로 질소제거를 위한 주요 메커니즘은 질산화ㆍ탈질이다. 첫 단계는 호 기성 조건하에서 질산화 독립영양 박테리아가 NH4를 NO3로 질산화하고 두 번째 단계에서는 무산소 조건하에서 탈질 박테리아가 NO3를 N2로 전환시키며 수중에 서 대기중으로 방출된다. 최근에는 *Thiosphaera pantotropha*가 혼합된 활성슬러 지 프로세스에서 NO3-N의 호기적 탈질을 보고한 바 있다.⁸⁰⁾ Tsai 와 Lee⁸¹⁾도 *Acinetobater Johnsoii/Genospecies 7*을 사용하여 호기적으로 탈질을 시도한 바 있으며 이것은 박테리아의 nitrate reductase activity가 증대되었기 때문인 것 을 보고하였으며, Kao⁸²⁾도 탈질 박테리아가 호기적 조건하에서 nitrate reductase를 합성한다고 보고한 바 있다. 한편 어떤 종류의 박테리아는 호기적 으로 배양하였을 때 nitrate reductase가 완전히 억제되었으며 nitrate reductase 는 용존산소에 의해 영향을 받은 것으로 나타났다.

한편 어떤 종류의 strain은 호기적 조건보다 혐기적 조건에서 nitrate reductase가 4~10배나 더 높음을 나타냈으며 이것은 enzyme activity가 용존산 소에 의해 영향을 받는 것으로 보고한 바 있다. 원래 본 실험의 고정화에 사용 한 *K. pneumoniae*는 호기적 배양조건에서 분리한 균으로써 호기적 조건에서 NH₄ 와 NO₃를 동시에 제거할 뿐만 아니라 혐기적 조건하에서도 NO₃-N가 제거 되는 것으로 알려졌다. 따라서 *K. pneumoniae*를 고정화하여 무산소 조건에서

NO₃-N가 제거되는 것은 본 균의 Enzyme activity가 무산소 조건에서도 발현되 기 때문인 것으로 사료된다.



Fig. 20. Effect of C/N ratios on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at anoxic condition.

7) 탄소원에 따른 NO3-N제거(무산소 조건)

Fig. 21 에는 고정화 K. pneumoniae를 사용하여 무산소 조건의 배양에서 탄소원에 따른 NO3-N의 제거변화를 나타내었다. 고정화 비드 충진율은 20%이며,C/N비는 10 이고 탄소원으로는 glucose, acetate 및 methanol을 사용하였다.Fig.21에서와 같이 3종류의 다른 탄소원을 사용하여도 고정화 K. pneumoniae를무산소 조건에서 배양하면 모두 12시간만에 제거됨을 알 수 있다. Fig. 16의 K.pneumoniae를 호기적으로 배양할 경우에는 methanol을 탄소원으로 이용하지못하였으나 무산소조건으로 배양하면 methanol도 탄소원으로 이용이 가능하며호기적 배양보다는 무산소 조건에서 배양하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.일반적으로 탈질을 위한 수요공여체(탄소원)로써 유입 하・폐수 중의 유기물을사용하지만 유기물이 부족할 경우에는 탈질 반응이 탄소에 의해 제어되기 때문에 외부로부터 메탄올처럼 값싼 유기화함물을 보충할 필요가 있다.

메탄올을 투여하기 위한 경험식은 다음과 같다.

 $Cm=2.47N_{o} + 1.53N_{1} + 0.87D_{o}$

여기에서,

Cm : 메탄올 소요량 , mg/*l* N_o :초기 질산성 질소 농도 , mg/*l* N₁ :초기 아질산성 질소 농도 , mg/*l* D_o : 초기 용존 산소 농도, mg/*l*



Fig. 21. Effect of different carbon sources on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and anoxic condition.

8) 초기 NO3-N 농도에 따른 NO3-N 제거(무산소조건)

Fig. 22에는 *K. pneumoniae*를 사용하여 무산소 조건에서 초기 NO₃-N 농도에 따른 NO3-N 제거변화를 나타내었다. C/N비는 10이며, 고정화 비드 충진율은 20%이고, NO₃-N 농도는 24.6~180.8 mg/ℓ이다. 초기 NO₃-N농도 24.6 mg/ℓ인 경우 반응 6시간만에 거의 제거되어 0.264 mg/ℓ 정도 남았으며, (98,9%제거), 초기 NO₃-N농도 46.0 mg/ℓ인 경우에는 반응 12시간만에 0.15 mg/ℓ까지 제거 (99.7%제거)되었다. 또한 초기 NO₃-N농도 102.6 mg/ℓ인 경우에는 18시간 만에 0.78 mg/ℓ까지 제거(99.2%제거)되었고, 초기 NO₃-N농도 180.8 mg/ℓ인 경우에 는 48시간만에 1.5 mg/ℓ까지 제거 (99.2%제거)되었다.

고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 호기적 상태에서 배양한 경우 (Fig. 17) 와 비교해보면 초기 NO₃-N 농도 100 mg/*l*까지는 무산소 조건에서 배양한 것과 같이 12시간만에 제거되었으나 초기 NO₃-N 농도 180.8 mg/*l*인 경우에는 무산 소상태 보다 호기적을 배양하는 쪽이 NO₃-N 제거율이 더 높았다.



Fig. 22. Effect of initial NO₃-N concentration on the removal of NO₃-N by immobilized *K. pneumoniae* at a C:N ratio of 10:1 and anoxic condition.

9) 고정화 K. pneumoniae 에 의한 연속 NO3-N 제거

Fig. 23은 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 연속적으로 운전하였을 때의 NO ₃-N제거변화를 나타낸 것이다.

질소원은 NaNO₃이며 유입수 농도는 NO₃-N으로써 50 mg/l이다. C/N비는 10 이고 초기 HRT(hydraulic retention time : 수리학적 체류시간)는 24시간이다.

HRT 24시간일 때 유입수 NO₃-N는 5 mg/l 이하로 처리되었으며 연속 운전 40일까지의 평균 NO₃-N의 제거율은 96.5%이었다. 실험 40일부터 HRT를 12시 간으로 낮추었으며 HRT감소에 따라 43일경에 유출수 NO₃-N농도가 10 mg/l 부근까지 증가하는 경향을 보였으나 이후 점차 감소하여 안정적으로 NO₃-N가 제거되었다. HRT 12시간일 때 NO₃-N의 평균 제거율은 98.4%이었다.

HRT 24시간일 때 와 12시간일 때 NO₃-N의 부하는 각각 0.05 kg-NO₃-N/m³ • d 와 0.1 kgNO₃-N/m³ • d 이다.

이와 같이 *K. pneumoniae*를 고정화하여 호기성상태에서 처리하더라도 HRT 12시간에서 안정적으로 NO₃-N가 제거됨을 알 수 있었다.

kesseru 등⁸³⁾은 *Pseudomonas butanovora*를 Na-alginate에 고정화하여 C/N비 6에서 탄소원으로 succinic acid를 사용하여 NO₃-N의 탈질을 한 경우 1.17 kg-NO₃-N/m³・d의 탈질 부하율을 나타냈으며 탈질균을 고정화하면 고부하에 서도 연속적으로 탈질이 가능함을 보고한 바 있다.

본 실험에서는 HRT를 12시간 까지 밖에 적용하지 못했기 때문에 용적부하율 이 낮지만 앞으로의 실험에서는 HRT를 더욱더 감소시킴과 동시에 낮은 C/N비에 서도 탈질이 가능하도록 운전조건을 확립해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.



Fig. 23. Variation of effluent NO₃-N on continuous experiment by immobilized *K. pneumoniae* at 24hrs of HRT and NaNO₃ used as a nitrogen source at a C:N ratio of 10:1.

2. 고정화 P. aeruginosa AE-1-3를 이용한 질소제거

1) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 균체농도에 따른 NH₄-N와 NO₃-N 제거변화

Fig. 24와 25에는 고정화 제조시 *P. aeruginosa* AE-1-3균체농도에 따른 NH₄-N와 NO₃-N 제거변화를 나타내었다. 합성하수중의 질소원은 NH₄NO₃이며 C/N비는 10으로 조절하였고 고정화 제조시 균체 양은 2~10 g이다.

P. aeruginosa AE-1-3균체 8 g을 사용하여 고정화 한 경우 50 mg/l의 NH₄-N를 제거하는데 약 12시간 정도 걸렸으나 고정화시 4 g의 균체를 사용한 경우에는 12시간에서 6.75 mg/l까지만 제거된 후 이후 점차 제거되어 실험 48 시간 일때에는 2.34 mg/l가 남았다. 2 g의 균체를 사용한 경우에는 반응 12시 간 일 때 6.75 mg/l까지 제거되었으나 48시간 일때에는 2.34 mg/l이 잔존하여 95.3%제거되었다.

10 g을 사용한 경우에는 12시간 일 때 19.15 mg/l이 잔존하였으며 48시간째 에도 75.7%밖에 제거되지 않았다.

또한, *K. pneumoniae* 균체 8 g 을 사용하여 고정화한 경우 50 mg/l의 NO₃-N를 제거하는데 12시간정도 소요되었으나, 4 g과 2 g을 사용한 경우에는 각각 10.1 mg/l와 18.2 mg/l 까지만 제거되어 NO₃-N를 완전히 제거하지 못햇 다.

이와 같이 고정화 제조시 균체량이 많을수록 NH4-N이나 NO3-N 제거시간이 단축되었으나 고정화 제조시 8 g 정도면 적절한 양으로 판단된다. 실험 데이터 로 나타내지 않았지만 10 g이상의 균체를 사용하면 고정화 제조시 고정화 비드 의 강도가 약해질 뿐만아니라 부서지는 경향을 나타내어 제거효율이 저하되는 것으로 사료된다.

Sheldon 등⁸⁴⁾은 Pichia pastoris를 고정화하여 에탄올을 아세트 알데히드로 전 환할 때 고정화 균체농도에 대한 영향을 조사한 결과 고정화에 사용한 균체농도 가 높을수록 알코올 산화의 비활성도가 낮음을 나타낸바 있다. 또한 Morikawa 등⁸⁵⁾은 bacitracin 생성에 있어서의 균체 영향을 조사한 결과 역시 균체량이 많

을수록 bacitracin 생성율이 낮아지는 것을 나타내었다. 이러한 이유로써 Sheldon 등⁸⁴⁾은 고농도의 균체를 함유하는 고정화 비드에서는 산소나 기질의 확 산속도가 고정화 균체의 활성에 대한 제한인자로 되기 쉽기 때문인 것으로 판단 하였다.

한편 角野 등⁶⁹⁾은 질산화균을 고정화 할 때 생균수가 적으면 고정화 비드내에 질산화균이 존재하지 않는 쓸모없는 공간이 너무 많아 장기간 순화시켜도 고정 화 비드용적당 활성도를 얻을 수 없기 때문에 고정화시에는 가능한한 활성도가 높은 질산화균을 고농도로 고정화 하는 것이 중요하다고 하였다.

본 실험에서도 고정화 제조시 균체량이 많을수록 NH₄-N와 NO₃-N 제거가 빠르 게 진행되는 것으로 보아 본 실험의 균체 농도범위에서는 고농도의 균체를 사용 하는 쪽이 바람직할 것으로 사료된다.



Fig. 24. Effect of cell amounts in the immobilized beads on the removal of NH₄-N at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 25. Effect of cell amounts in the immobilized beads on the removal of NO₃-N at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

2) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 의 고정화 비드크기에 따른 NH₄-N와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 26과 27에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 의 고정화 비드크기에 따른 NH₄-N과 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. 질소원은 NH₄NO₃이며 C/N비는 10 이고 고정화 비드 크기는 겉보기로 2mm, 3mm, 5mm이다.

각각의 고정화 비드를 사용하였을 때 NH4-N는 18시간만에 96.8%이상의 제거 율을 보였으며 비드크기가 작을수록 제거율이 다소 높았다. 마찬가지로 NO3-N 역시 비드 크기가 작을수록 NO3-N제거율이 높았다.

고정화 비드 2mm와 3mm를 사용한 경우 18시간만에 각각 NO₃-N제거율 98% 와 97.5%을 나타냈으나, 5mm의 고정화 비드의 경우에는 92.1%를 나타내었다.

정 등⁸⁶⁾은 SCN⁻분해균을 고정화하여 고정화 비드 평균 직경 1.8, 2.3, 2.7mm 크기로 만들어 티오시안 분해능력을 검토한 결과 고정화 비드 직경이 작을수록 분해시간이 짧음을 보고한 바 있으며. Bettman 등⁸⁷⁾도 페놀 분해균을

Polycrylamide-hydrazid에 고정화하여 고정화비드 크기에 따른 페놀 분해성을 조사한 결과 0.1%의 페놀을 분해하는데 있어서 직경 1.5mm의 비드의경우 24시 간만에 분해되는데 비해 1.5mm의 비드를 사용한 경우에는 12시간만에 분해되 어 고정화 비드 직경이 작을수록 빨리 분해됨을 보고 하였다. 이와 같이 고정화 비드 직경이 작을수록 분해시간이 빠른것은 戶田 등⁸⁸⁾이 효모를 한천에 고정화 하여 히분 배양한 결과 비드 직경이 작을수록 증식속도가 증가하였으며 이것은 고정화 비드 내부로 산소 및 기질의 확산이 원할한 이유로 설명하였다. Matinsen⁸⁹⁾도 메탄올과 glycine으로부터 L-serine 생성율에 있어서 고정화 비드 직경이 작을수로 L-serine 생성율이 증가하는데 이 원인도 기질과 산소확산에 기인한 것으로 보고있다. 본 실험에서도 고정화 비드 직경이 작을수록 NH4-N과 NO3-N 제거율이 높은 것은 고정화 내부로 원활한 기질확산에 기인하는 것으로 사료된다.

그러나 본 연구에서는 3mm이하의 고정화 비드를 만드는데 어려움이 있어 이후 의 실험에서는 평균 크기 3mm의 고정화 비드를 사용하였다.



Fig. 26. Effect of bead size on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 27. Effect of bead size on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

3) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 충진율에 따른 NH₄-N와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 28과 29에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 충진율에 따른 NH₄-N과 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. 질소원은 NH₄NO₃이며, 초기 NH₄-N와 NO₃-N농도는 각각 50 mg/ℓ이다. C/N비는 10이 되도록 조절 하였으며 각 반응 조에 고정화 비드를 반응용적의 10~50%가 되도록 주입하였다.

고정화 비드 충진율 20%, 30%, 50%일 때 NH₄-N는 대부분 12시간만에 제거 되는 경향을 보였으며, 12시간을 기존으로 할 때 각각의 NH₄-N제거율은 각각 96.8%, 99.4% 및 99.4%였다.

고정화 비드 충진율이 10%일 때에는 18시간째 7.03 mg/ℓ(85.94%의 제거율)까 지 제거되었으나 48시간 일 때도 5.2 mg/ℓ 정도의 NH₄-N이 남았다.

마찬가지로 NO₃-N제거변화를 보면 고정화 비드 충진율 20%, 30%, 50%일때 의 NO₃-N제거율은 반응 12시간 기준에서 각각 96.1%, 98.7% 및 99.5%였으며, 고정화 비드 충진율 10%에서도 18시간 만에 99.24%의 NO₃-N 제거율은 나타냈 다.

이와 같이 고정화 비드 충진율이 높을수록 NH₄-N나 NO₃-N의 제거율이 약간 높은 경향을 나타냈으나 충진율 20% 이상이면 제거율에 있어서 큰 차이는 없었 다. 정 등⁷³⁾은 고정화 활성슬러지를 사용하여 합성하수 중의 질소를 제거할 때 고정화 비드 주입량이 많을수록 NH₄-N가 빠르게 제거됨을 나타낸바 있으며, 박 등⁷⁴⁾도 한천 아크릴아미드로 포괄 고정화한 미생물을 사용한 PVA처리특성 연구 에서 PVA처리율은 반응기에 주입한 고정화 비드량에 비례하지는 않았으나 주입 량이 많을수록 처리효율이 높음을 보고한 바 있다. 그러나 반응조 내에 비드 충 량을 30%나 50%로 유지하기 위해서는 약품값이 과다하게 소요되므로 이후의 실험에서는 비드 충진율을 20%로 하여 회분식 실험을 수행하였다.



Fig. 28. Effect of amount of immobilized bead on the removal of NH₄-N at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 29. Effect of amount of immobilized bead on the removal of NO₃-N at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

4) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용한 C/N비에 따른 NH₄-N와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 30과 31에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 C/N비에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. 질소원은 NH₄NO₃이며, NH₄-N 및 NO₃-N 농도는 각각 50 mg/l이다. 고정화 비드충진율은 20%이며 C/N비는 2.5~20이다.

NH₄-N제거의 경우 C/N비 10과 20에서는 18시간만에 99.9%이상의 제거율을 보였으나 C/N비 5에서는 실험 6시간째 15.45 mg/ℓ(69.1%의 제거율)까지 제거 된 후 48시간까지 거의 제거되지 않았으며, C/N비 2.5에서는 실험 6시간째 25.4 mg/ℓ(49.2%의 제거율)까지 제거된 후 C/N비 5와 마찬가지로 실험 48시간 까지 거의 제거되지 않았다.

NO3-N제거의 경우 C/N비 10과 20에서는 12시간만에 각각 99.5%과 99.9%의 제거율을 나타냈으나 C/N비 5에서는 실험 6시간째 11.56 mg/ℓ(76.9%의 제거 율)까지만 제거되었고 C/N비 2.5에서 실험 6시간째 32.16 mg/ℓ(35.7의 제거율) 까지만 제거되었다.

이와 같이 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3를 사용하였을 때 C/N비 10이상 이어 야만 NH₄-N와 NO₃-N를 동시에 완전히 제거할 수 있지만 C/N비 5와 2.5에서 는 35.7~76.9%밖에 제거되지 않았다.

김⁹⁰⁾은 본 실험에 사용한 *P. aeruginosa* AE-1-3를 사용하여 C/N비에 따른 NH₄-N와 NO₃-N의 제거를 검토한 결과 C/N비 2.5에서는 NH₄-N및 NO₃-N이 각각 73%와 76%만 제거됨을 보고한 바 있다. 또한 Fig. 15의 고정화 *K. pneumoniae*의 C/N비에 따른 NO₃-N의 제거에서도 C/N비 10이상 일 때 99.2%이상의 제거율을 보였으나 C/N비 5에서는 52.6%밖에 제거되지 않았다.

따라서 본 실험에서와 같이 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3를 사용하여 NH₄-N 와 NO₃-N를 동시에 완전히 제거하기 위해서는 C/N비 10이상이 필요할 것으로 사료된다.



Fig. 30. Effect of C/N ratios on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 31. Effect of C/N ratios on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

5) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 탄소원에 따른 NH₄-N와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 32과 33에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 탄소원에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. 고정화 비드 충진율은 20%이며 C/N비는 10 이고 탄소원으로는 glucose, acetate 및 methanol을 사용하였다.

NH₄-N 제거에 있어서 glucose를 탄소원으로 사용한 경우 NH₄-N 50 mg/l은 약 18시간만에 완전히 제거되었으나 methanol을 탄소원으로 사용한 경우에는 실험 48시간 동안 거의 제거되지 않았다. Acetate를 탄소원으로 사용한 경우에 는 20.1 mg/l까지 제거되어 약 59.9%의 제거율을 보였다.

NO₃-N제거에 있어서는 glucose를 탄소원으로 사용한 경우 NH₄-N제거와 마찬 가지로 약 18시간만에 NO₃-N이 98.1%제거되었으나 methanol을 탄소원으로 사 용한 경우네는 거의 NO₃-N가 제거되지않았다. 그러나 acetate를 탄소원으로 사 용한 경우에는 NH₄-N 제거와는 다르게 약 30시간만에 NO₃-N 50 mg/l이 완전 히 제거되었다. 이와 같이 탄소원으로써 glucose를 사용하였을 때에는 NH₄-및 NO₃-N가 동시에 제거되었으나 methonol은 탄소원으로 이용하지 못했다. 그러 나 acetate를 사용하는 경우에는 NO₃-N 제거시에 탄소원으로 이용가능하나 NH₄-N제거시에는 약 50%정도 밖에 발휘하지 못함을 알수있다.

이것은 김⁹⁰⁾의 연구에서와 같이 고정화하지 않는 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 여러 탄소원에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거를 검토한 결과 methanol 탄 소원으로 사용한 경우에는 *P. aeruginosa* AE-1-3이 증식하지 않았고 acetate를 탄소원으로 사용하였을 경우에는 glucose를 사용하였을 때의 약 반정도 밖에 증 식하지 않음을 보고한 바 있다. 따라서 본 실험의 결과에서 처럼 acetate를 탄소 원으로 이용시 NH₄-N가 약 60%정도밖에 제거되지 않는 것은 박테리아의 생육 과 깊은 관계가 있는 것으로 사료된다.

한편 고정화 *K. pneumoniae*를 사용한 실험에서도 NO₃-N제거시 glucose만 탄 소원으로 이용이 가능한 것으로 (Fig. 16) 볼 때 일반적으로 하수에서 질소제거 시 탄소원으로 methanol을 사용하는 경우가 많지만 특정 박테리아를 사용하여 질소를 제거할 때에는 그 박테리아에 알맞은 탄소원을 조사 검토할 필요가 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 활성슬러지를 사용한 질소 제거시에는 탄소원으로써 메탄올을 첨가

하는 경우가 많은데 김 등⁷⁶⁾은 COD/NO₃-N비가 3.0일 때 NO₃-N제거효율이 93%임을 보고한바 있고 안 등⁷⁷⁾은 C/N비 5~10에서 96%의 총질소 제거효율을 보였으나 C/N비 3과 2.8에서는 각각 83%와 81%를 나타낸 바 있다.

정 등⁷⁸⁾은 토양컬럼을 사용한 질소제거에 관한 연구에서 탄소원이 부족한 경 우 메탄올을 C/N비 4.4이상이 되도록 조절한 결과 안정적인 탈질효과를 보고한 바 있다.



Fig. 32. Effect of different carbon sources on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.


Fig. 33. Effect of different carbon sources on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

6) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 NH₄-N와 NO₃-N의 초기농 도에 따른 제거변화

Fig. 34과 35에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3의 NH₄-N 및 NO₃-N의 제거 변화를 나타내었다. 고정화 비드 충진율은 20%이며 C/N비는 10이고 초기 NH₄ NO₃농도는 50~400 mg/ℓ이다.

NH₄-N제거의 경우 NH₄-N 50 mg/ℓ까지는 12시간만에 완전히 제거되었으나 100 mg/ℓ 이상에서는 완전히 제거되지 않았다. NH₄-N 100 mg/ℓ의 경우 12시 간을 기준으로 볼 때 72.3% 제거되었으며, 초기 NH₄-N농도 150 mg/ℓ과 200 mg/ℓ인 경우에는 각각 78.8%와 82.4%의 제거율을 나타내었다. NO₃-N의 경우 도 NH₄-N와 마찬가지로 초기 NO₃-N농도 50 mg/ℓ까지는 12시간만에 완전히 제거되었으나 초기 NO₃-N농도 100 mg/ℓ이상에서는 완전히 제거되지 않았다. 초기 NO₃-N농도 100 mg/ℓ, 150 mg/ℓ 및 200 mg/ℓ일 때의 제거율(18시간기 준)은 각각 46.5%, 26.7% 및 22.7%이었다.

한편 김⁹⁰⁾은 고정화하지 않은 *P. aeruginosa*를 사용하여 초기 NH₄NO₃농도에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거 연구에서 NH₄-N 175 mg/l까지는 완전히 제거되었 고 NH₄-N 350 mg/l에서도 약 72%가 제거되었으며, NO₃-N 역시 350 mg/l까 지도 18시간 만에 완전히 제거됨을 나타내었다. 이와 같이 *P. aeruginosa* AE-1-3을 고정화하지 않고 사용하는 경우에는 고농도의 NH₄-N 및 NO₃-N이 제거되지만 본 균을 고정화 하면 초기 NH₄-N 및 NO₃-N 농도가 50 mg/l이하 까지만 완전히 제거되었다.

이것은 박테리아를 고정화하면 고정화 비드내로 기질 및 산소확산 저항이 크기 때문에 NH₄-N 및 NO₃-N 제거효율이 저하되는 것으로 사료된다.

Fig. 36은 Fig. 34의 데이터(NH₄-N)를 이용하여 Lineweaver-Burk plot을 작성 한 그림이다. Fig. 36에서 처럼 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하였을 때 의 반속도 정수 K_m값은 434.1 mg/l로 계산되었다. 반면에 김⁹⁰⁾의 연구결과에 서의 K_m값은 259.5 mg/l로 고정화하였을 때의 K_m값이 높음을 알수 있다. 이것 은 Fig. 18에서와 같이 *K. pneumoniae*를 고정화한 경우에도 고정화하지 않을

때 보다 K_m 값이 높았듯이 원래 K_m값은 원래 효소와 기질간의 화학친화력으 관 계를 나타내는 것으로써 K_m값이 작을수록 친화력이 큼을 의미한다. 이와 같이 균체를 고정화 함으로써 K_m값이 변화하는 것은 고정화 비드내에서의 기질 또는 생 성물의 확산이 율속단계가 되기 때문에 겉보기 K_m값이 증대되는 것으로 생각 할 수 있으며 본 실험의 결과와 같이 고정화 균체가 고정화하지 않은 균체보다 K_m값 이 큰 것은 고정화 비드내로 기질확산 저항이 커서 기질에 대한 친화성이 작기 때 문인 것으로 사료된다.



Fig. 34. Effect of initial NH₄NO₃ concentration on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 35. Effect of initial NH₄NO₃ concentration on the removal of NO₃-N removal by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 36. Lineweaver-Burk plots immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3.

7) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 의 pH변화에 따른 NH₄-N 와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 37과 38에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 pH에 따른 NH₄ -N 및 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. 고정화 비드 충진율은 20%이며 질소 원은 NH₄NO₃이고 C/N비는 10이다. pH는 6~10으로 조절하였다.

NH₄-N제거를 보면 pH 7, 8, 9에서의 실험 18시간째를 기준으로 할 때 NH₄-N제거율은 각각 96.2%, 98.1% 및 98.9%로써 대부분의 NH₄-N가 제거되었으 나 pH 6에서는 51.6%만 제거되었다.

NO₃-N의 경우에도 pH 7, 8, 9에서 실험 12~18시간만에 대부분의 NO₃-N가 제거되었으며 12시간을 기준으로 볼 때 NO₃-N의 제거율은 각각 96.8%, 99.1% 및 98.1%이었으나 pH 6에서는 63.3%만 제거되었다. 이와같이 본 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 NH₄-N 및 NO₃-N를 제거할 때에는 pH를 7~9 사이에 조절해 주는 것이 타당할 것으로 사료된다.

김 등¹⁰⁾은 본 실험에 사용한 *P. aeruginosa* AE-1-3을 분리 동정할 때 최적 pH는 7.1이고 pH 8과 9 에서는 NH₄-N 및 NO₃-N의 제거율이 pH 7.1일 때보 다 60~70%정도로 낮아짐을 보고한 바 있다.

Imai 등⁹¹⁾ 및 Batsalova 등⁹²⁾은 효소를 PVA(polyvinyl alcohol)에 고정화 하여 pH 활성도를 조사한 결과 고정화 효소 쪽이 고정화하지 않은 효소보다 pH 활성 도가 높았으며, Kobayashi 등⁹³⁾ 및 Canterella 등⁹⁴⁾ 역시 고정화 효소 쪽이 보다 넓은 pH 범위에서 반응하고 있음을 보고하였다.

또한 Tanaka 등⁹⁵⁾도 photo-crosslinkable resin을 이용하여 효소를 고정화하 고 이 고정화 효소의 pH 활성도를 조사한 결과 고정화 효소가 고정화하지 않은 효소보다 넓은 pH범위에서 활성이 있음을 나타내었다. 이와 같이 미생물을 이용 하여 하·폐수를 처리할 때 환경의 pH가 다른 경우에는 미생물을 고정화하면 미생물의 활성을 나타내는 pH보다 어느 정도 이동시킬 수 있을 것으로 사료된 다.

이처럼 박테리아를 고정화하였을 때 최적 pH나 pH 활성도가 다른 이유는 고정 화재료의 정전기적 성질에 의한 것이라는 보고가 있지만 앞으로 pH 이동현상에

따른 연구가 필요할 것으로 판단된다.



Fig. 37. Effect of pH on the removal of NH₄-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic



Fig. 38. Effect of pH on the removal of NO₃-N by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

8) 고정화 P. aeruginosa AE-1-3의 온도변화에 따른 NH4-N

와 NO₃-N의 제거변화

Fig. 39과 40에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 온도에 따른 NH₄ -N의 제거변화를 나타내었다.

고정화 비드의 충진율은 20%이며 질소원은 NH₄NO₃이고 C/N비는 10이다. 반 응온도는 10℃, 20℃ 및 32℃이다.

NH₄-N제거의 경우 실험 12시간 일 때 반응온도 10℃, 20℃ 및 32℃에서 NH₄ -N 제거율은 각각 94.8%, 97.5% 및 99.6%로 온도가 높을수록 NH₄-N의 제거 율은 높았으며, 10℃에서도 94.8%의 양호한 제거율을 나타내었다.

본 실험에서 사용한 *P. aeruginosa* AE-1-3의 온도변화에 따른 연구 결과는 없 기 때문에 직접 비교하기는 어려우나 Fig. 19의 경우에서 처럼 박테리아를 고정 화하면 낮은 온도인 10℃에서도 65.3%정도의 NO₃-N제거율을 보였듯이 *P. aeruginosa* AE-1-3을 고정화하였을 때 낮은 온도에서도 99.6%의 NH₄-N제거 율을 나타내었다. 포괄고정화 담체의 경우 고정화하지 않는 미생물에 비해 온도 에 대한 영향이 적은 것은 포괄 고정화 담체내에 서식하는 미생물의 경우 담체 라는 보호막을 갖고 있어 외부환경에 덜 민감하기 때문일 것으로 사료되나 이 부분에 대한 고찰은 좀 더 많은 연구를 통하여 입증해야 할 것으로 본다.



Fig. 39. Effect of different temperatures on the removal of NH₄-N removal by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.



Fig. 40. Effect of different temperatures on the removal of NO₃-N removal by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3 at a C:N ratio of 10:1 and aerobic condition.

9) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 이용한 NH₄-N와 NO₃-N 의 연속적 제거

Fig. 41과 42에는 고정화 *P.aeruginosa* AE-1-3을 이용하여 연속적으로 NH₄ NO₃를 처리하였을 때의 NH₄-N 및 NO₃-N 제거변화를 나타내었다. 질소원은 NH₄NO₃이며 초기 C/N비는 5이고, 유입수 NH₄-N 및 NO₃-N농도는 각각 50 mg/l이다.

HRT 24시간일 때 유출수 NH₄-N는 11.4 mg/l에서 21.0 mg/l으로 변동하였으 며 평균제거율은 72.9%이었다. 실험 22일째부터 HRT 12시간으로 낮추어 75일 까지 운전하였다. 이 기간동안의 유출수 NH₄-N농도는 7.81 mg/l에서 16.23 mg/l까지 변동하였으며 평균 제거율은 78.4%로 HRT 24시간일 때 보다 약 6% 의 제거율이 증대되었다. 실험 76일째부터는 다시 HRT를 6시간으로 낮추어 100 일까지 운전하였다. 유출수 NH₄-N의 값은 7.1 mg/l에서 13.54 mg/l까지 변동 하였으며 이때의 평균 제거율은 80.5%이었다. 본 실험의 조건에서는 HRT가 낮 을수록 NH₄-N 제거율이 증가하는 경향을 나타내었다. 실험 101일째부터는 HRT 6시간을 그대로 유지하면서 C/N비를 5에서 10으로 증가 시켰다. C/N비를 증가 시켰을 때 유출수 NH₄-N는 10 mg/l이하까지 제거되었으며 평균 NH₄-N 제거 율은 90.5%이었다.

NO₃-N 제거변동의 경우 초기 HRT 24시간일 때 실험초기 22.64 mg/l에서 점 차 6.2 mg/l가지 감소하였으며 평균 NO₃-N제거율은 75.1%이었다. 실험 22일 째부터 HRT를 12시간으로 낮추었으며 이때 유출수의 NO₃-N는 5.5 mg/l에서 14.5 mg/l까지 변동하였고 평균 NO₃-N 제거율은 86.1%이었다. 실험 76일째부 터 HRT를 6시간으로 낮추어도 유출수의 NO₃-N는 0.4 mg/l에서 10.9 mg/l까 지 변동되었으나 평균제거율은 93.4%로 NH₄-N의 경우처럼 비슷한 경향을 보였 다.

실험 101일째부터는 C/N비를 10으로 올려서 운전하였는바 C/N비 증가에 따 라 유출수 NO₃-N는 C/N비 5일 때 보다 더 낮아지는 경향을 나타내었다. 이때 의 평균 제거율은 97.4%를 나타내었다. 이와 같이 일반적으로 질소제거에 있어

서 HRT가 감소하면 처리율(제거율)이 증가하는 경향을 나타내지만 본 실험의 운 전조건에서는 HRT가 감소함에도 불구하고 NH₄-N나 NO₃-N의 제거율은 증가하 였다.

HRT를 6시간 이하로 운전하지 않아서 비교하기는 어려우나 적어도 *P. aeruginosa* AE-1-3을 고정화 하면 C/N비 5일 때 HRT 6시간에서도 NH₄-N 제거율 80.5%와 NO₃-N 제거율 93.4%를 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 더욱 이 C/N비를 10으로 증가시키면 90%이상의 NH₄-N 및 NO₃-N 제거율을 달성할 수 있지만 일반적으로 하수중의 질소를 제거하기 위해서는 C/N비가 3~5정도가 필요한 것으로 볼 때 가능하다면 C/N비를 증가시키는 것 보다는 낮은 C/N비에

서 운전하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

Fig. 43에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3를 이용하여 연속적으로 NH₄CI을 처리하였을 때의 유출수 NH₄-N 제거변화를 나타내었다. 질소원으로는 NH₄CI을 사용하였으며 초기 HRT 24시간에서 점차 12시간과 6시간으로 감소시켰고 C/N 비는 초기5에서 10으로 늘렸다.

HRT 24시간일 때 유출수 NH₄-N농도는 19.4 mg/ℓ에서 30.08 mg/ℓ까지 변동 하였으며 이 때의 제거율은 55.5%이었다. 실험기간이 경과함에 따라 유출수 NH 4-N가 다소 낮아지는 경향을 보였으며 실험 21일에는 HRT를 24시간에서 12시 간으로 감소시켰다. HRT를 12시간으로 하여도 유출수 NH₄-N농도가 감소하는 경향을 나타냈으나 실험 50일째 부터는 높아지는 경향을 보여 유출수 NH₄-N농 도가 31 mg/ℓ까지 증가하였으며 이후 점차 낮아졌다.

HRT 12시간에서의 평균 NH₄-N제거율은 57.4%이었다. 실험 75일째 부터는 다 시 HRT를 6시간으로 낮추어도 유출수 NH₄-N농도는 크게 변동하지 않았으나(평 균 제거율 58.3%)실험 101일째부터 C/N비 5에서 10으로 증대시켜 운전하였을 때 유출수 NH₄-N농도는 10 mg/ℓ이하로 제거되는 경향을 보였다. 이와 같이 고 정화 *P.aeruginosa* AE-1-3을 사용하여 NH₄CI을 처리하고자 할 때 유출수의 NH₄CI 10 mg/ℓ이하를 얻기 위해서는 C/N비 10이 필요함을 알 수 있었다.

고정화에 이용한 *P. aeruginosa* AE-1-3은 원래 Fig. 41과 42에서 보였듯이 NH₄NO₃를 질소원으로 사용하였을 때 C/N비 10에서 동시에 NH₄-N 와 NO₃-N

를 제거할 수 있는 균주이다.

그러나 NH₄CI을 단독 질소원으로 한 연속 실험에서는 C/N비 5에서 Fig. 41처 럼 NH₄-N 제거율이 높지 않았고 C/N비 10일 때 비로소 10 mg/l이하로 제거되 었다. 유입 하수 중의 질소 형태는 일반적으로 NH₄-N의 형태를 띄고 있기 때문 에 NH₄-N 와 NO₃-N가 동시에 들어있는 질소원 보다는 NH₄-N만 함유되어 있 는 질소원을 사용하는 것이 하수처리에 적용시킬 때 바람직할 것으로 사료된다. 앞으로 이 부분에 대한 자세한 검토가 필요할 것으로 판단된다.



Fig. 41. Variation of effluent NH₄-N in continuous experiment by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3. NH₄NO₃ used as a nitrogen source.



Fig. 42. Variation of effluent NO₃-N in continuous experiment by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3. NH₄NO₃ used as a nitrogen source.



Fig. 43. Variation of effluent NH₄-N in continuous experiment by immobilized *P. aeruginosa* AE-1-3. NH₄Cl used as a nitrogen source.

활성슬러지 프로세스를 조합한 *P. aeruginosa* AE-1-3 에 의한 NH₄-N와 NO₃-N의 연속제거

1) 활성슬러지 반응조 뒤에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조의 질소제거

Fig. 44와 45 활성슬러지 반응조와 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조를 조합한 시스템에서 유출수의 NH₄-N, NO₃-N 및 COD 변화를 나타낸 것이다.

활성슬러지 반응조가 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조의 전단에 위치하 며 활성슬러지 반응조에서 처리된 유출수가 고정화 박테리아 반응조에 유입된 다. 활성슬러지 반응조에 유입되는 합성하수의 질소원으로는 NH₄CI을 사용하였 으며 C/N비는 5이고 HRT는 2시간이 되도록 유입시켰다. 유입수의 NH₄-N 및 COD는 각각 50 mg/l와 500 mg/l이다.

활성슬러지 반응조에서의 유출수 변화를 보면, 실험 초기 15일까지는 유출수의 NH₄-N과 T-N 및 COD농도 변화가 심하였으나 이후에는 농도 변동폭이 작았다. 실험 15일 이후의 데이터를 기준으로 볼 때 유출수의 NH₄-N는 5.3 mg/l에서 25.2 mg/l까지 변동하였으며 평균 NH₄-N 제거율은 67.2%이었다. 유출수 NO₃ -N의 경우, 5 ~12 mg/l까지 (35일까지) 변동하다가 이후에는 1 mg/l이하로 검출되었으나 활성슬러지 반응조에서 일부분 NH₄-N가 NO₃-N로 전환 되었으나 실험기간이 경과하면서 질산화는 더 이상 나타나지 않았다.

이것은 활성슬러지 반응조에 구성되어 있는 침전조에 슬러지가 침전된 상태로 남아있어 이 부분에서 탈질이 이루어지기 때문에 질소가 제거되는 것으로 사료 된다. 실험 15일 이후부터의 평균 T-N제거율은 79.5%로써 활성슬러지 반응조에 서 상당량의 질소가 제거됨을 알 수 있다.

유출수 COD의 경우 8.9 mg/l에서 22 mg/l까지 변동하고 있으며 유입 COD가 500 mg/l임을 감안할 때 COD 평균제거율은 97.5%이었다.

고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에 있어서도 실험 초기(15일까지)에는 NH₄-N 농도변화가 심하였으나 이후에는 농도 변화폭이 작음을 알 수 있다. NH

₄-N농도는 4.1~17.7 mg/ℓ까지 변동하였으며 평균 NH₄-N 제거율은 고정화 박 테리아 반응조에 유입된는 NH₄-N 농도를 기준으로 할 때 25.7%이며 유입수 NH₄-N 농도를 기준으로 할 때 전체적으로 75.8%제거되었다.

NO₃-N의 경우 실험초기부터 악간씩 증가하여 실험 25일경에는 15.8 mg/l까지 증가하다가 점차 안정적인 값을 나타내었으며 이 때의 유출수 NO₃-N은 8.9 ~23.3 mg/l의 범위였다.

고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에서 NO₃-N가 생성되는 것은 아마도 활 성슬러지 반응조에서 유출된 활성슬러지가 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응 조에 넘어 들어왔기 때문일 것으로 사료되나 이부분에 대한 정확한 규정은 하지 못하고 있다. 앞으로의 실험에서는 이 부분에 대해서 규명할 필요가 있다고 본 다.

한편 유출수 COD는 6.4 mg/l에서 12.6 mg/l까지 변동 (평균 10.6 mg/l)하였 으나 앞단의 활성슬러지 반응조에서 유입된 COD(평균 11.5 mg/l)가 고정와 박 테리아 반응조에서는 거의 제거되지 않고 유출되는 것으로 판단되었다.

이와같이 앞단에 활성슬러지 반응조를 설치하고 후단에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조를 설치하여 운전하였을 때 고정화 박테리아 반응조에서의 NH₄ -N, NO₃-N, 및 COD제거효과는 극히 미미한 것으로 사료된다. 이것은 앞단에서 유기물이 거의 제거되어 후단에 유입되는 유기물 양이 적기 때문에 질소제거가 잘 이루어지지 않는 것으로 생각된다.



Fig. 44. Variation of effluent NH₄-N, NO₃-N, T-N and COD concentrations in activated sludge process.



Fig. 45. Variation of effluent NH₄-N, NO₃-N and COD concentrations in immobilized bacteria process.

2) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조 뒤에 활성슬러지 반응조의 질소제거

Fig. 46과 47에는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조와 활성슬러지 반응조 를 조합한 시스템에서의 유출수 NH₄-N, NO₃-N, 및 COD 변화를 나타내었다.

Fig. 44, 45과는 반대로 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조가 활성슬러지 반응조 전단에 설치되었으며 합성 하수의 유입수는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조를 거쳐 활성슬러지 반응조를 통과하여 유출된다. 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에 유입되는 합성하수의 질소원등 농도 및 실험조건 은 Fig. 44에서와 같다

고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에서의 유출수 변화를 보면 NH₄-N의 경 우 실험기간동안 16.2 mg/l에서 25.7 mg/l(평균 22.5 mg/l)까지 변동하였으며 NH₄-N의 평균 제거율은 55%이었다. NO₃-N의 경우에는 실험기간 동안 최대 1.6 mg/l로 거의 생성되지 않는 것으로 나타났으며 본 반응조에서는 NO₃-N가 생성이 되지 않음을 알 수 있었다. COD의 경우 유입수 농도 500 mg/l가 대부 분 16 mg/l이하로 처리되었으며 COD평균 제거율은 97.2%를 나타내어 유기물 은 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3반응조에서 제거됨을 알 수 있었다.

활성슬러지 반응조에서의 유출수 농도 변화를 보면 NH₄-N의 경우 9.45 mg/*l* 에서 22.6 mg/*l*(평균 15.5 mg/*l*)까지 변동하였으며 유입수 평균 22.5 mg/*l*를 기준으로 할 때 제거율은 약 31.1%이며 유입수 NH₄-N농도 50 mg/*l*를 기준으 로 보면 약 69%의 제거율을 나타내었다.

활성슬러지 반응조에서는 NO₃-N가 생성되었으며 실험기간 동안 NO₃-N 농도 는 11.21 mg/l 20.32 mg/l (평균 14.3 mg/l)까지 변동 전환 되었다. 이것은 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에서 유입된 NH₄-N의 일부가 본 반응조 에서 NO₃-N로 전환되었음을 의미한다.

유출수 COD는 8.2 mg/l에서 14.4 mg/l(평균 11.6 mg/l)로 변동하였으나 이 것 역시 Fig. 44에서처럼 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에서 유입된 COD가 활성슬러지 반응조에서는 거의 이용되지 못한 채 유출된 것으로 사료된

다. 이와 같이 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조와 활성슬러지 반응조를 앞 뒤 위치에 설치 하여 실험 해 본 결과 대부분의 유기물은 앞에 설치한 반응조에 서 제거되었으며 이로 인해 후단에 설치한 반응조에서는 유기물 부족현상이 일 어나는 것을 알 수 있었다.

따라서 2개의 반응조를 설치하여 효율적으로 질소를 제거하기 위해서는 후단에 유기물(탄소원)을 따로 공급하여 처리하거나 또는 후단의 처리수를 앞단의 반응 조에 순환시켜 후단에서 생성된 NO₃-N를 탈질시키는 것도 바람직할 것으로 사 료된다.



Fig. 46. Variation of effluent NH₄-N, NO₃-N and COD concentrations in immobilized bacteria process with 12hrs of HRT and a C:N ratio 10:1. NH₄Cl used as a nitrogen source



Fig. 47. Variation of effluent NH₄-N, NO₃-N and COD concentrations in immobilized bacteria process and activated sludge. NH₄Cl used as a nitrogen source

3) 활성슬러지 반응조와 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응 조 혼합의 질소제거

Fig. 48에는 활성슬러지 반응조 내에서의 *P. aeruginosa* AE-1-3의 질소제거 능력을 검토하기 위해서 활성슬러지 반응조내에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 을 주입하여 연속적으로 운전하였을 때의 유출수 NH₄-N와 NO₃-N 및 COD의 농도변화를 나타내었다.

실험조건은 Fig. 44과 같다. NH₄-N의 경우 실험 27일 째에 31.9 mg/l까지 증 가하였으나 전체 실험기간동안의 평균 유출수 NH₄-N농도는 17.1 mg/l로써 제 거율은 약 65.8%이었다. NO₃-N의 경우에는 실험기간동안 0.5 mg/l이하로 거 의 생성되지 않아 활성슬러지가 존재함에도 불구하고 NH₄-N의 NO₃-N로의 전 환은 없었다.

COD변화를 보면 실험 초기에 26 mg/l까지 나타났으나 점차 감소하여 8.4 ~14.8 mg/l까지 안정적으로 처리되고 있음을 알 수 있다. COD제거율은 97.7% 를 나타내었다.

이와 같이 활성슬러지 반응조내에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 주입하더라 도 NH₄-N제거율은 65.8%로써 Fig. 45의 경우와 비교해 볼 때 큰 차이는 나지 않았지만 보다 효율적으로 처리하기 위해서는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3를 활성슬러지와 혼합하여 사용하는 것 보다는 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응 조와 활성슬러지 반응조를 따로 구성하여 설치하는 것이 바람직할 것으로 사료 된다.



Fig. 48. Variation of effluent NH₄-N, NO₃-N, and COD concentrations in immobilized bacteria process combined with activated sludge. NH₄Cl used as a nitrogen source

4. 생물막법

1) 활성슬러지 혼합에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N 제거비교

Fig. 49과 50은 부직포 생물막 반응조에 활성슬러지와 P. aeruainosa AE-1-3 을 부착 시켜 연속적으로 운전한 실험 결과이다. 질소원으로 NH,NO,를 사용하 였으며 활성슬러지와 P. aeruginosa AE-1-3를 동시에 부착시킨 생물막 반응조 와 P. aeruginosa AE-1-3만을 부착시킨 생물막 반응조를 사용하였고, HRT는 24시간 초기 합성하수의 C/N비는 5이며 호기적으로 운전하였다. NH₄-N의 제거 변화를 보면 실험 초기인 15일까지 2개의 반응조 모두에서 유 출수 NH₄-N농도 변화가 심하였으나 이후에 점차 안정되는 추세를 보이고 있다. 활성슬러지와 P. aeruainosa AE-1-3을 혼합 부착한 생물막 반응조의 경우 실험 16일부터 45일까지의 C/N비 5에서의 유출수 평균 NH₄-N 농도는 12.7 mg/l이 며, 평균 제거율은 74.6%이다. 실험 45일 C/N비 5에서 10으로 증가시켰을 때 유출수 NH₄-N도 증가하다 감소하는 경향을 보였는데 이것은 C/N비 증가로 인 해 부직포에 곰팡이가 왕성하게 번식한 결과 활성슬러지와 P. aeruainosa AE-1-3이 제 기능을 발휘하지 못하였기 때문인 것으로 사료된다. 유출수 NH, -N가 낮아진 실험 51일에는 다시 C/N비를 5로 낮추었으며 이 때의 평균 NH, -N은 15.1 mg/l (평균 제거율, 69.9%)이었다. 한편 P. aeruginosa AE-1-3만 을 부착시킨 생물막 반응조에서도 활성슬러지와 P. aeruginosa AE-1-3을 혼합 한 반응조와 비슷한 경향을 보이고 있는 것으로 보이나 *P. aeruginosa* AE-1-3 만을 사용한 경우 평균 유출수 평균 NH₁-N는 C/N비 5일 때 18.2 mg/ℓ로 다소 높게 검출되었다. 평균 NH₄-N 제거율은 63.6%이었다. NO₃-N제거변화의 경우 를 보면 NH₄-N의 경우보다 매우 안정적으로 제거되고 있는 것으로 나타났으며, C/N비 증가에 따라 유출수 NO3-N이 높아지는 경향을 나타냈지만 NO3-N농도 20 mg/ℓ 이하로 NH₄-N보다 높지는 않았다. 다시 C/N비 5로 운전한 결과 NO3-N는 안정적으로 제거되었다. C/N비 5일 때 활성슬러지와 P. aeruginosa AE-1-3만을 부착시킨 반응조에서의 평균 유출수 NO₃-N 농도는 각각 1.11 mg/ ℓ 와 1.51 mg/ℓ이며, 평균 제거율은 각각 97.78%와 96.98%로 P. aeruginosa AE-1-3만 부직포에 부착시켜 운전하여도 NO,-N제거효율은 매우 우수한 것으 로 나타났다.



Fig. 49. Variations of effluent NH₄-N concentration in the biofilm process attached activated sludge and *P. aeriginosa* AE-1-3 and the biofilm process attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only.



Fig. 50. Variations of effluent NO₃-N concentration in the biofilm process attached activated sludge and *P. aeriginosa* AE-1-3 and the biofilm process attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only.

2) 생물막 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 이용한 NH₄-N의 연속적 제거

Fig. 51과 52에는 부직포에 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 부착시켜 연속적으로 운전한 실험 결과이다. 질소원으로는 NH₄CI을 사용하였으며, 활성슬 러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 혼합하여 부착시킨 생물막 반응조와 *P. aeruginosa* AE-1-3만 부착시킨 생물막 반응조를 사용하였다. 실험 초기의 HRT 는 24시간이며 합성하수의 C/N비는 5이고 호기적으로 운전하였다. NH₄-N의 제 거변화를 보면, 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 혼합하여 부착시킨 반응 조의 유출수 NH₄-N은 C/N비 5에서 5.2 mg/l에서 31.43 mg/l 까지 변동하였 고 평균 유출수 NH₄-N농도는 18.74 mg/l로 평균 제거율은 62.5%이었다. 실험 19일째에 C/N비 5에서 C/N비 10으로 증가시켜도 유출수 NH₄-N는 22.4 mg/l 이하로 제거되었다. Fig. 49의 질소원으로 NH₄NO₃을 사용한 경우와 비교해보면 NH₄NO₃을 사용할 때의 평균 NH₄-N제거율 69.8%보다는 다소 낮은 제거율을 나타냈다.

P. aeruginosa AE-1-3만을 부착시킨 생물막 반응조는 C/N비 5일에서 운전하 는 실험기간 곰팡이의 과다 성장 및 유입수 주입 펌프 등의 고장으로 인해 실험 결과를 얻을 수 없었다.

활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 혼합 부착시킨 생물막 반응조에서의 NO₃-N제거 변화를 보면 C/N비 5일 때 유출수 NO₃-N는 10 mg/l에서 점차 낮 아져 실험 10일 경에는 0.42 mg/l를 나타내었다. 질소원으로는 NH₄CI을 사용하 기 때문에 유출수에는 NO₃-N 가 검출되지 않을 것으로 예상되었으나 Fig. 52에 서 처럼 실험초기에 NO₃-N가 검출되는 것은 생물막 반응조에 부착된 활성슬러 지에 의해 NH₄-NOI NO₃-N로 전환되었기 때문일 것으로 사료된다. C/N비 10으 로 증가시켰을 때에는 반응조내에서 질산화가 진행되어 20 mg/l 부근까지 증가 되었으나 C/N비 5로 다시 낮추면 질산화는 진행되지 않는 것으로 나타났다.



Fig. 51. Variations of effluent NH₄-N concentration in the biofilm attached Activated sludge and *P. aeriginosa* AE-1-3, and the biofilm process attached *P.aeruginosa* AE-1-3 only.



Fig. 52. Variations of effluent NO₃-N concentration in the biofilm attached Activated sludge and *P. aeriginosa* AE-1-3, and the biofilm process attached *P.aeruginosa* AE-1-3 only.

3) 생물막 *P. aeruginosa* AE-1-3을 이용한 NH₄-N와 NO₃-N

의 연속 제거

Fig. 52과 53은 부직포에 *P. aeruginosa* AE-1-3만을 부착시킨 생물막 반응조 를 사용하여 연속적으로 운전한 실험 결과이다. 질소원으로 NH₄NO₃를 사용하였 으며, 실험초기에는 Anoxic상태로 운전하다가 98일 이후부터는 호기성 상태에서 운전하였으며 실험기간 C/N비는 10 이고 HRT는 24시간이었다. NH₄-N의 경우 유출수 NH₄-N의 변동 폭이 7.1 mg/l에서 33.4 mg/l로 심하였으며 평균 유출 수 NH₄-N농도는 21.54 mg/l로 제거율은 56.9%를 나타냈다. 실험 96일째부터 무산소 상태로 운전하던 반응조를 호기성 상태로 전환하였으며 호기성 상태로 전환과 동시에 유출수 NH₄-N은 대부분 1.0 mg/l이하를 나타내어 약 99.5%의 제거율을 보였다.

NO₃-N의 경우(Fig. 54) Anoxic상태로 유지함에도 불구하고 실험초기에는 높지 는 않지만 1.47 mg/l에서 4.58 mg/l 정도 밖에 검출되지 않아 무산소상태에서 도 NO₃-N가 제거되는 것을 알 수 있었다. 실험 18일 경에는 1.2 mg/l이하로 안정적으로 NO₃-N가 제거되었으며, 이 때의 제거율은 97.3%에 도달하였다. 마 찬가지로 실험 96일째부터 무산소상태에서 호기성 상태로 전환하였을 때 유출수 NO₃-N는 무산소 상태일 때 보다도더 낮은 농도를 유지하였으며 이 기간 동안의 유출수 평균 NO₃-N농도는 0.54 mg/l으로 제거율은 98.9%를 나타내었다.

이와 같이 *P. aeruginosa* AE-1-3을 부착시킨 생물막 반응조를 사용하여 무산 소 상태로 유지 하였을 때 Fig. 49의 실험결과에서의(C/N비 5) NH₄-N제거율 63.6%에는 못미치나 약 57%의 제거율을 나타냈으며 호기성 상태로 유지하여 곰팡이의 발생을 억제하면 C/N비 5 에서 보다 C/N비 10 일 때 NH₄-N제거율이 99.5%로 월등히 높음을 알 수 있었다. 한편 NO₃-N의 경우에는 Fig. 50의 C/N 비 5에서 호기성 상태로 운전할 때나 무산소 상태로 운전하거나 또는 C/N비 10 에서 호기성상태로 운전하더라도 NO₃-N 제거율에는 큰 차이를 보이지 않았으며 97%이상의 NO₃-N제거율을 나타내었다.

이와 동시에 Fig. 55에 나타낸 바와 같이 유출수의 COD도 무산소 상태에서 소비(COD평균 제거율 88.2%)되고 있고 당연히 호기성 상태에서도 COD가 제거

- 119 -

(COD평균 제거율 95.3%)되고 있는 것으로 볼 때 본 실험에 사용한 *P. aeruginosa* AE-1-3는 NH₄NO₃를 제거하기 위해서는 유기물이 필요한 것으로 사료된다.



Fig. 53. Variations of effluent NH₄-N concentration in the biofilm attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only.



Fig. 54. Variations of effluent NO₃−N concentration in the biofilm attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only.



Fig. 55. Variations of effluent COD concentration in the biofilm attached *P. aeruginosa* AE-1-3 only.

V. 결론

질소제거를 위한 새로운 프로세스를 개발하기 위하여 polyethylene glycol이 주 성분인 고분자 물질에 *Klebsiella pneumoniae* 과 *Pseudomonas aeruginosa* AE-1-3을 포괄고정화 하여 합성폐수의 질소제거에 영향을 주는 여러 인자들을 회분식으로 검토함과 동시에 연속적으로 질소제거 가능성을 검토하였으며 또한 위의 2균주를 부직포에 부착시킨 생물막 반응조를 이용하여 질소제거 가능성을 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 고정화 K. pneumoniae를 이용한 NO3-N 제거

1) 고정화 비드의 충진율에 따른 NO3-N의 제거율을 검토한 결과 충진량이 많 을수록 NO3-N 제거시간이 단축되었으며

2) C/N비 2.5~10 까지는 NO₃-N 제거 시 lag time이 비슷하지만 C/N비 10과 30에서 lag time이 길어지는 경향을 보였고 C/N비 2.5인 경우에는 탄소원의 부 족으로 41.3%만 제거되었다.

3) 고정화 *K. pneumoniae*를 사용하여 NO₃-N를 제거하는 경우 탄소원으로써 glucose는 이용가능하나 메탄올을 이용하지 못하였으며 acetate를 사용한 경우 에는 약 64.8% 밖에 제거하지 못했다.

4) NO₃-N농도 200 mg/ℓ까지는 30시간 만에 93.1%가 제거되었으며

5) *K. pneumoniae*를 고정화 하면 저온인 10℃에서도 NO₃-N가 65.3% 제거되 어 고정화 하지 않을때보다 약 15%이상의 제거효율을 나타내었다.

6) 고정화 *K. pneumoniae*는 무산소 조건에서도 NO₃-N가 제거 가능하였으며 무산소 조건에서는 C/N비 2.5에서도 NO₃-N 50 mg/l이 완전히 제거되어 호기 적으로 반응시키는 것보다도 낮은 C/N비에서 NO₃-N 제거가 가능하였다.

7) 무산소 조건하에서는 탄소원으로써 글루코스나 acetate 뿐만 아니라 메탄올 도 이용 가능하였다.

8) 무산소 조건하에서는 초기 NO₃-N 농도 180.8 mg/ℓ 도 48시간 만에 1.5 mg/ℓ 까지 제거되어 99.2%의 제거율을 나타내었다.

9) 고정화 *K. pneumoniae*를 충진한 반응조를 사용하여 NaNO₃을 질소원으로, C/N 10, 초기 HRT 24시간으로 하여 호기적으로 연속 제거실험을 한 결과 HRT

24시간일 때와 12시간일 때 평균제거율은 각각 99.9%와 99.8%이었다.

2. 고정화 P. aeruginosa AE-1-3를 이용한 NH₄-N 및 NO₃-N 제거

1) *P. aeruginosa*를 고정화 할 때 균체량에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N제거를 검 토한 결과 균체량이 많을수록 NH₄-N 및 NO₃-N 제거시간이 단축되었으나 고정 화 할 때 10 g 이상의 균체를 사용하면 고정화 비드의 강도가 약해져 제거효율 이 낮았다.

2) 고정화 비드의 크기를 2mm. 3mm 및 5mm로 만들어 사용하였을 때 NH₄-N 및 NO₃-N의 제거율은 96.8%이상이었으며 고정화 비드 직경이 작을수록 분해시간이 짧았다.

3) 고정화 *P. aeruginosa* 의 충진율에 따른 NH₄-N 및 NO₃-N의 실험 결과 고정화 비드 충진율이 높을수록 이 들 제거율이 높은 경향을 보였으며 충진율 20%이상이면 제거율에 있어서 큰 차이가 없었다.

4) C/N비 10 이상일 때 NH₄-N와 NO₃-N가 동시에 모두 제거되었으나 C/N 비 2.5와 5에서는 35.7%~76.9%밖에 제거되지 못했다.

5) 탄소원으로 glucose를 사용한 경우에는 NH₄-N가 18시간 만에 제거되었 고, NO₃-N제거에 있어서 glucose를 사용한 경우 18시간 만에 98.1%제거되었 고, acetate를 사용한 경우에는 30시간 만에 제거되었으나 메탄올은 역시 탄소 원으로 이용하지 못했다.

6) NH4-N와 NO3-N를 동시에 제거하기 위해서는 NH4-N와 NO3-N 농도가 각각 50 mg/l 이하일 때 만 가능하였으며 초기 NH4-N 및 NO3-N 농도가 100 mg/l 이상에서는 50%이하의 제거율을 나타내었다.

7) 온도가 높을수록 NH₄-N 제거율일 증가하였으며 특히 낮은 온도인 10℃에 서도 NH₄-N 제거율은 94.8%를 나타내었다.

8) 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 이용하여 NH₄NO₃를 질소원으로 하고 C/N비 5에서 연속적으로 처리한 결과 HRT 6시간에서도 NH₄-N의 평균 제거율 은 80.5%이었으며 C/N비 10에서는 90.5%까지 증가하였다. NO₃-N도 HRT 6시 간에서 평균 제거율이 93.4%로 양호한 제거율을 나타내었다.

9) 한편 질소원으로 NH4CI을 사용한 경우에는 유출수 NH4-N농도 10 mg/ℓ이 하로 제거하기 위해서 C/N비 10으로 운전하는 것이 바람직할 것으로 판단되었 다.

3. 활성슬러지를 조합한 고정화 P. aeruginosa AE-1-3 반응조

1) 활성슬러지 반응조에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3을 투입하여 연속 처리 한 결과 NH₄-N 제거율은 65.8%에 그쳤으나 NH₄-N가 NO₃-N로의 전환은 없었 다.

2) 앞단에 활성슬러지 반응조를 설치하고 후단에 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응 조를 설치하여 연속 처리할 때 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조에서의 NH₄-N 및 NO₃-N 제거효과는 낮았다. 이것은 앞단에서 유기물이 대부분 제거되 어 후단에 유입되는 유기물 양이 적기 때문인 것으로 판단된다.

3) 앞단에 고정화 *P. aeruginosa* AE-1-3 반응조를 설치하고 후단에 활성슬러 지 반응조를 설치한 경우에도 유입수의 대부분의 유기물은 앞단의 반응조에서 제거되었으며 이로 인해 후단에 설치한 반응조에서는 유기물 부족으로 NH₄-N 및 NO₃-N 제거율이 낮았다.

4. 생물막법

1) 부직포에 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 동시에 부착시킨 반응조 와 *P. aeruginosa* AE-1-3만을 부착시킨 반응조를 사용하여 (질소원으로 NH4NO₃ 사용) NH4-N 및 NO₃-N의 연속제거 실험을 수행한 결과 NH4-N는 각 각 약 69.8%와 63.6%의 제거효율을 나타냈으나 NO₃-N는 2개의 반응조에서 각

각 97.78%와 96.98%의 제거효율을 나타내었다.

2) 부직포에 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 동시에 부착시킨 반응조와 *P. aeruginosa* AE-1-3만을 부착시킨 반응조에 질소원으로 NH₄CI을 사용하여 연속제거 실험을 수행한 결과 활성슬러지와 *P. aeruginosa* AE-1-3을 동시에 부 착시킨 반응조에서의 NH₄-N 제거율은 62.5%를 나타내었으며 활성슬러지를 부 착한 반응조에서 실험기간이 경과함에 따라 질산화 현상이 나타났다.

3) 부직포에 *P. aeruginosa* AE-1-3만을 부착시킨 생물막 반응조에서 NH₄NO₃ 를 질소원으로 사용하여 연속처리한 결과 무산소 상태에서의 NH₄-N 제거율은 56.9%이었으나 호기성 상태에서는 99.5%의 제거율을 나타내었다. NO₃-N는 무 산소상태에서도 약 97.3%의 제거율을 나타내었고 호기성 상태에서는 98.9%의 제거율을 나타내었다.
REFERENCES

- 1) 김정훈, 김영주, 박홍석 : 암모늄 이온 및 질산화균의 초기 농도가 질산화에 미치는 영향, 대한토목공학회, 421~426, 2006.
- 2) 김영철, 정팔진, 안익성 : 자연현상을 이용한 질산화-탈질공정에 의한 하 수처리장 유출수의 질소제거. 대한환경공학회지, 27(3), 323-329, 2005.
- Mona Kshirsagar, A. B. Gupta, S. K Gupta : Aerobic denitrification studies on activated sludge mixrd with Thiosphaera pantotropha, Environmental technology, 16, 35-43, 1995.
- Joo, H. S., Hirai, M. and Shoda, M. : Characteristics of amonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by Alcaligenes faecalis no. 4, The Society for Biotechnology, 100, 184–191, 2005.
- 5) Kuenen, J. G. and Robertson, L. A, : Combined nitrification denitrifi cation processes, FEMS Microbiol. Rev., 15, 109–117, 1994.
- Verstraete, W. and Philps, S. : Nitrification-denitrification process and technologies in new texts, Environmental pollution, 102, 91, 717-726, 1998.
- Painter, H. A. : A Review of Literature on Inorganic Metabolism in Microorganism, Wat. res., 4(6), 393-450, 1970.
- 8) 정재춘 : 미생물고정화법에 의한 배수처리, 동화기술, 1991.
- 9) 김선일, 윤영재, 정경훈 : 광경화성 수지에 고정화된 활성슬러지에 의한 페 놀 분해, 한국생물공학회지, 11(5), 577-585, 1996.
- 10) 김영주, 송영채, 김종오, 박홍석 : 혐기성 상태에서 암모늄 이온과 질산성 질소를 제거하는 미생물의 분리 및 배양조건, Microbiol. Biotechnol., 33(1), 65~69, 2005.
- 11) Kim, Y · J., Yoshizawa, M., Takenaka, S., Murakami, S. and Aoki, K. : Isolation and Culture conditions of a kebsiella pneumoniae strain that can utilize ammonium and nitrate ions simultaneously with controlled iron and molybdate ion concentrations, Biosci. Bio technol. Biochem.,

66(5), 996-1001, 2002.

- 12) 황규대, 배성현 : 포기조에 충진된 고정상 담체가 A2/O공정에서 질소제거 에 미치는 영향, 한국물환경학회, 22(6), 1022-1030, 2006.
- 13) Focht D. D, and Verstraete, M. : Biochemical ecology of nitrification and denitrification, Adv. Microb. Ecol., 1, 135-214, 1977.
- 14) 김택수, 배민수, 조광명 : Effects of Hydraulic retention time and cycle timeon the Sewage Treatment Efficiency of Intermittently Aerated Non-Woven Fabric Filter Bioreactor, 대한환경공학회지, 17~24, 2005.
- Van Huyssteen, J. A., Barnard, J. L. and Hendriksz, J. : The Olifantsfontein Nutriet Removal Plant, Water Science and Technology, 22, 1~8, 1990.
- 16) Trivedi, H. and Heinen, N. : Simultaneous Nitrification/Denitrification by Mornitoring NADH Fluorescene in Activated Sludge, Proceedings of the Facility Operations II: Innovative Technology Forum; 73d Annual Conference, Water Environment Federation, Anaheim, CA, 2000.
- 17) Rittmann, B. E. and Langeland, W. E. : Simultaneous denitrification withnitrification in single-channel oxidation ditches, J. WPCF., 57, 300~308, 1985.
- Bertanza, G. : Simultaneous nitrification-denitrification process in extended aeration plants; pilot and real scale experience, Wat. Sci. Tech, 35(6), 53 ~61, 1997.
- Stenstrom, M. K. and Song, S. S. : Effects of oxygen transport limitations on nitrification in the activated sludge process, Research Journal Water Pollution Control Federation, 63, 208, 1991.
- 20) Painter, H. A. : Microbial transformation of inorganic nitrogen, Prog. Wat. Tech, 8, 3~29, 1977.
- Bliss, P. J. and Barnes, D. : Modelling nitrification in plant scale activated sludge, Wat. Sci. Tech, 18, 139~148, 1986.
- 22) 박종일, 이태진 : 단일 반응조 내 동시 질산, 탈질 반응에 관한 연구, 대한 환경공학회지, 1708-1714, 2006.

- 23) 이문호 : 생물학적 수처리 기술, 환경관리연구소, 196~197, 2001.
- 24) 권현진 : SBR에서 폐수주입방법에 따른 질소제거효율과 그에 따른 질산화/ 탈질미생물 분포에 대한 연구, 한림대학교대학원 석사학위논문, pp 19~20, 2007.
- 25) Dawson, R. N. and Murphy, K. L. : The Temperature dependency of biological denitrification, Water Research, 6, 71, 1972.
- 26) Book, E. : Growth of Nitrobacter in the presence of organic matter.II. Chemoorganic growth of Nitrobacter agilis, Arch. Microbiol. 108, 305~312, 1976.
- Wood, P. M. : Nitrification as a bacterial energy source. In: Processer JI(ed) Nitrification, IRL Pr ss, Washington, DC, 63~78, 1986.
- Schmidt, I. and Bock, E. : Anaerobic ammonia oxidation by cell free extracts of Nitrosomonas eutropha, Antonie van Leeuwenhoek, 73, 271~278, 1998.
- Proseser, J. I. : Autotrophic nitrification in bacteria. In Advances in Microbial Physiology, 30, (Rose, A.H.and Tempest, D.W.,Eds.), pp. 125~181. Academic Press, London.
- Steinmuller, W. and Bock, E. : Enzymatic studies on autotrophically mixotrophically and heterotrophically grown Nitrobacter agilis with special references to nitrate oxidase, Arch. Microbiol. 115, 51~54, 1989.
- Book, E., Wilderer, P. A. and Freitag, A. Growth of Nitrobacter in the absence of dissolved oxygen, Water Res.22. 245~250, 1988.
- 32) Sundermeyer-Klinger, H., Meyer, W., Warninghoff, B. and Bock, E. : Membrane-bound nitrite oxidoreductase of Nitrobacter. evidence for anitrate reductase system, Arch. Microbiol. 140,153~158 1984.
- 33) Mulder, A. : Anoxic Ammonium Oxidation, US patent 427849 (507884)United States Paten, (1992).
- 34) Mulder A., Van de Graaf A. A, Robertson L. A. and Kuenen, J. G.:Anaerobc ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized

bed reactor, FEMS Microbiol. Ecol., 16, 177~183 1995.

- 35) Van Niel, E. W. J., Arts, P. A. M., Wesselink, B. J., Boberston, L. A. and Kuenen, J. G. : Competition betwwen heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures, FEMS Microbiol. Ecol., 102, 109~118 1993.
- 36) Ralt, D., Gomez, R. F. and Tannerbaum, S. R. : Conversion of a cetohyd roxamate and hydroxylamine to nitrite intestinal microorganisms, Eur, J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 12, 226~230, 1981.
- Castignetti, D. and Hollocher, T. C. : Heterotrophic nitrification among denitrifiers, Appl. Environ. Microbiol. 47, 620~623, 1984.
- 38) Stams, A. J. M., Flameling, E. M. and Marnettte, E. C. L. : The importance of autotrophic versus heterotrophic oxidation of atmospheric ammonium in forest ecosystems with acid soi,. FEMS Microbiol. Ecol., 74, 337~344, 1990.
- 39) Robertson, L. A. and Kuenen, J. G. : Combined heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in Thiospaera pantotropha and other bacteria, Antonie van Leeuwenhoek, 57, 139~152, 1990.
- Robertson, L. A. and Kuenen, J. G. : Heterotrophic nitrification in Thiospaera pantotropha : oxygen uptake and enzyme studies, J. Gen Microbiol. 134, 857~863, 1988.
- 41) Killham, K. : Heterotrophic nitrification. In: Nitrification (Prosser, J. I., Ed.), pp.117~126. IRL Press, Oxford. 1986.
- 42) 주홍수, Shoda, M. : Alcaligenes faecalis No. 4의 종속영양질산화-호기 탈질에 의한 고농도 암모늄 제거의 탈질경로 해석에 관한 연구, 대한환경 공학회 2006 추계학술연구발표회 논문집, 230~235, 2006.
- 43) Hellinga C., Schellen A. A. J. C., Mulder J. W., van Loosdrecht M. C. and Mand Heijnen, J. J. : The SHARON process: An innovative method for nitrogen renoval from ammonium-rich wastewate, Wat. Sci. Tech., 37, 135~142, 1998.
- 44) Hellinga, C., Van Loosdrecht, M. C. M and Heijnen, J. J. : Model

based design of a novel process for nitrogen removal from concentrated flows, Math. Comp. Model Dyn., 5, 351~371, 1999.

- 45) Strous, M, Heijnen, J. J., Kuenen J. G. and Jetten M. S. M. : The sequencing batch reactor as a powerful tool to study very slowly growing micro-organisms, Appl. Microbiol. Biotechnol., 50, 589~596, 1998.
- 46) Schmidt, I. and Bock, E. : Anaerobic ammonia oxidation with nitrogendioxide by Nitrosomonas eutropha, Arch. Microbiol., 167, 106~111, 1997.
- 47) Strous M, Van Gerven, E., Kuenen, J. G. and Jetten M. S. M. : Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobi ammonium-oxidizing (anammox) sludge, Appl. Environ. Microbiol., 63, 2446~2448, 1997.
- 48) Third, K. A., Slieker A. O., Kuenen, J. G. and Jetten M. S. M. . The CANON system under ammonium limitation (interaction and competition between three groups of bacteria), Sys. Appl. Microbiol. 24, 588~596, 2002.
- 49) Koch, G., Egli, k., Van der Meer, J. R. and Siegrist, H. : Mathematical modeling of autotrophic denitrification in a nitrifying biofilm of rotating biological contactor, Water Sci. Technol., 41. 191~198, 2000.
- 50) Schmidt I., D. Zart, D. and Bock, E. : Gaseous NO₂ as a regulator for ammonia oxidation of Nitrosomonas eutropha. Antonie vanLee uwenhoek, 79, 311~318, 2001.
- 51) Schmidt, I., Sliekers, O., Schmid, M., Book, E., Fuerst, J., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. and Strous, M. : New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater, FEMS Microbiology, 27, 481~492, 2003.
- 52) 안성수 : study on petrochemical wastewater Treatment utilizing microbial fixing carrier, 전남대학교대학원 석사학위논문, pp 5~7, 2006.
- 53) 정용철 : Nitrogen removal SND of Membrane-BNR process using Fixed media, 경북대학교대학원 석사학위논문, pp 30~33, 2006.

- 54) Harris, N. P. and Hansford, G. S. : A study of substrate removal in a microbil film reactor, Water Res., 10, 935, 1976.
- 55) Rusten, b., Hem L. T. and Odegaard, H., : Nitrification of municipal wastewater in moving bed biofilm reactor, water Enuirom. Res., 67, 75, 1995.
- 56) 조봉연, 膜 여과, 양서당, pp. 68~69, 1990.
- 57) Mohsen, M. S., Jaber, J. O. and Afonso, M. D., : Desalination of brackishwater by nanofiltration and reverse osmosis, Desalination, 157, 167, 2003.
- 58) Koyuncu, L., Yalcin, F. and Ozturk, I., Color removal of high strength paper and fermentation industry effluents whit membrane technology, Wat. Sci. Tech., 40, 241~248, 1999.
- 59) 이정원 : MBR system을 이용한 소규모 오수처리장에서의 질소와 인 제거, 영남대학교 대학원 석사학위논문, pp13~18, 2007.
- Gunder, B. and Krauth, K. : Replacement of secondary clarification by membrane separation - Results with tubular, palate and hollow fibre module, Wat. Sci. Tech., 40, 310~320, 1999.
- 61) lavimoghaddame, M. R., Satoh, H., and Mino, T., : Performance of coarsepore filtration activated sludge system, Asian Waterqual 2001, (1), 189~194, 2001.
- 62) 조광명 : 여과막 활성슬러지공법에 의한 유기성 폐수의 처리, 대한토목학 회 논문집, 28(6), 119~133, 1980.
- Nilson, I., Hilson, S., Molin, N. and Mosbach, K. : Denitrification of Water using Immobilized Psedomonas Denitrifications Cells, Eur. J. Appl. Microbiol. biotechnol., 10, 261–274, 1991.
- 64) Xing, X. H., Shiragami, N, and Unno, H.: Simultaneous of organic substanaced and nitrogen by retained microbial community accumulated in porous polyurethane particles, 水質汚濁研究會誌, 14(2), 127-130, 1991.
- 65) Kawamura, J., Umita, T., Omura, Y., Aizawa, J. and Onuma, M. : Biological nitrification in the fluidized bed reactor with amberlite

IRA-938 as a support medium, 水質汚濁研究會誌, 14(3), 190-198, 1991.

- 66) Kokufuta, E., Matsumoto, W. and Nakamura, I. : Immobilization of Nitroscomonas europaea cells with polyelctrolyte complex, Biotechnol. Biong., 24, 1591–1603, 1982.
- 67) Kokufuta, E., Shimohashi, M. and Nakamura, I. : Immobilization of Paracoccus denitrificans cells with polyelctrolyte complex and denitrifying activity of the immobilized cells, J. Fermednt. Techmol., 64, 533-538, 1986.
- 68) 橋本 獎, 古川 憲治 : 活性汚泥の 固定化と その 淨化機能に關する 研究, 下水導 協會 誌. 22, 42-50、1985.
- 69) 角野 立夫,大竹 康友,中村 紀 : アクリルアミト 包括固定化法による 排水處理,用水と 廢水,29,735-741,1987.
- 70) Kim, Y. J., Yoshizawa, M., Takenaka, S., Murakami, S. and Aoki, K. : Isolation and Culture conditions of a kebsiella pneumoniae strain that can utilize ammonium and nitrate ions simultaneously with controlled iron and molybdate ion concentration, Biosci. Biotechnol. Biochem., 66(5), 996-1001, 2002.
- 71) 정경훈, 김세영, 임병갑, 최형일, 박상일, 김영주 : Simultaneous Removal of NH4⁺ and NO3⁻ by Pseudomonas aeruginosa, 대한상하수도학회 추계 학술발표회 초록집, pp 68~73, 2006.
- 72) 김종택, 수질오염공정시험법 해설, 서울: 신광출판사, 1999.
- 73) 정경훈, 최형일, 정오진 : 고정화 활성슬러지에 의한 폐수중의 질소제거 가 능성 평가, 한국물환경학회지, 19, 17-24, 2003.
- 74) 박영규, 이철희, 박수정 : 포괄고정화법에 의한 PVA 함유 폐수의 처리특성, 대한환경공학회지, 16(8), 985-993, 1995.
- 75) 김솔진 : *Klebsiella pneumoniae*에 의한 NO₃-N의 호기성 탈질에 관한 연 구, 조선대학교 석사학위논문, 2008
- 76) 김형석, 은종국, 방승조 : 각종 수소공여체의 첨가에 의한 NO₃-N함유 폐수 탈질, 한국환경과학회지, 4(3), 229-237, 1995.
- 77) 안윤찬, 배민수, 이종호, 조윤경, 조광명 : 교대로 간헐포기 되는 부직포 여

과막 생물반응조에서 C/N비가 유기물 및 질소 제거효율에 미치는 영향, 대 한환경공학회지, 27(5), 499-506, 2005.

- 78) 정경훈, 임병갑, 최형일, 박상일, 문옥란 : 토양컬럼을 이용한 합성하수중의 질소제거, 한국환경과학회지, 16(6), 707-714, 2007.
- 79) 김선일, 윤영재, 정경훈 : 광경화성 수지에 고정화된 활성슬러지에 의한 페
 놀 분해, 한국생물공학회지, 11(5), 577-585, 1996.
- Kshirsagar, M., Gupta, A. B. and Gupta S. K. : Aerobic denitrification studies on activated sludge mixed with Thiosphaera pantotropha, Environmental Technology, 16, 35-43, 1995.
- Tsai, Y. C. and Lee, C. M. : Aerobic denitrification in Acinetobacter Johnsoii/ Genospecies 7, Asian Watergual 97, 6th IAWQ Asia-pacific regional conference, 295-303, 1997.
- 82) KaO, T. Y. : Denitrification and phosphorus removal in urban wastewater, The second environmental protection conference of two sides of straits, National Taiwan University, Taipai, 126-129, 1993.
- 83) Kesseru, P., kiss, I., Bihari, z. and Polyak, B. : Investigation of the denitrification activity of immobilized Pseudomonas butanovora cells in the presence of different organic substrates, water Research, 36, 1565–1571, 2002.
- 84) Sheldon, J., O. Duff, B. and William, D. M. : comparison of free and immobilized pichia pastoris cells for conversion of ethanol to acetaldehyde, Biotechnal. Bioeng., 31, 790–795, 1988.
- 85) Morikawa, Y., Ohiai, K., Karube, I. and Suzuki, S. : Bacitracin production by whole cells immobilized in polyacrylamide, Antimicrob. Agent. Chemother., 15, 126-130, 1979.
- 86) 정경훈, 최형일 : 고정화 Thiobacillus sp. 011에 의한 티오시안 분해에 미 치는 성질, 대한환경공학회지, 16, 381-390, 1994.
- Bettmann, H. and rehm, H. J. : Degradation of phenol loy polymer entrapped microorganisms, appl. microbiol. Biothechnol., 20, 285-290, 1984.
- 88) 戶田 清: 固定化 微生物の 廢水處理への 應用, 用水と廢水, 27, 992-999,



1985.

- 89) Martinson, A., Brak, G. and Smiderod, O. : Alginate as immobilization material : Corelation between chemical and physical properties of alsinate of gel beads, Biotechnal. Bioeng., 33, 79-89, 1989.
- 90) 김세영 : Pseudomonas aeruginosa에 의한 NH₄⁺ 및 NO₃⁻-N의 동시 제거
 에 관한 연구, 조선대학교 대학원 석사논문, 31-32, 2008.
- 91) Imai, K., Shiomi, T., Uhida. K. and Miya, M. : Immobilization of enzyme into poly(vinyl alcohol) membrane, Biotechnol. Bioeng., 28, 1721-1726, 1986.
- 92) Batsalova, K., Kunchev, K., Popova, Y., Kozhukharova, A. and kirova,
 N. : Gydrolysis of lactose by β-galactosidase immobilized in polyvinylalcohol, Appl. Microbiol. Biotechnol, 26, 227-230, 1987.
- 93) Kobayashi, T. et al. : Elimination of glucose in egg white by co-immobilized glucose oxidase and catalase, J. Ferment. Technol., 56, 506-510, 1978.
- 94) Canterella, M. et al. : Immobilization of yeast cells in hydroxyethylmethacrylate gels, Appl. Microbiol. Biotechnol., 20, 233-237, 1984.
- 95) Tanaka, A., Hagi, N.. Yasuhara, S. and Fukui, S. : Immobilization of catalase with photo-crosslinkable resin prepolymers, J. Ferment. Technol., 56(5), 511-515, 1978.

저작물 이용 허락서	
학 과	환경생명공학과 학 번 20057530 과 정 박사
성 명	한글 : 강 영 주 한문 : 姜 永 周 영 문 : Kang Yeong Ju
주 소	광주 남구 봉선2동 무등파크 202-1703호
연락처	010-9340-8995
	한글 : 고성화 비생물 및 생물막 프로세스를 이용한 합성하수의
	질소제거에 관한 연구
논문제목	영어 : A Study on the Nitrogen Removal from Synthetic
	Wastewater by Immobilized Microorganism and Biofilm
	Process
본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.	
	- 다 음 -
 지적물의 DB구국 및 인터넷을 포염한 정보통신방에의 공개를 위한 서작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집ㆍ형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함. 배포ㆍ전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의 사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인 에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송ㆍ출력을 허락함. 	
동의여부 : 동의(0) 반대()	
	2009 년 8 월 일
저작자 : 강 영 주 (서명 또는 인)	
조선대학교 총장 귀하	

감사의 글

논문이 완성되기 까지 저를 도와주시고 지도해 주신 모든 분들께 이 작은 지면을 빌러 감사의 마음을 전하고자 합니다.

박사과정 동안 미흡한 것이 많은 저에게 항상 따뜻한 사랑과 충고와 격려를 베풀어 주신 최형일 교수님께 먼저 머리숙여 감사를 드립니다.

또한 논문의 심사를 위해 자상한 지도와 관심을 가지고 이끌어 주신 정경훈 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

본 논문을 심사해 주신 신대윤 교수님, 김우항 교수님, 백계진부장님께도 감사드리며 학위 과정 중 저에게 많은 사랑과 관심으로 함께해준 직장 동료 여러분께도 감사드립니다.

또한 수질 실험실에서 성실하게 묵묵히 저를 도와주었던 김선미, 박경훈, 문경도, 송원종 후배들에게도 고마움을 전합니다.

그리고 먼 곳에서 묵묵히 지켜보며 용기를 주신 마음속에 항상 살아 계시는 어머님,

여기까지 올수 있도록 사랑으로 이끌어준 아버님과 장인, 장모, 형제들에게 도 감사드리며 마지막으로 학위를 받기까지 많은 사랑과 기도로 내조해준 아 내와 늘 나의 버팀목이 되준 딸 선지, 아들 현민에게도 고마움을 전합니다.

이 논문은 저 혼자 이룬 것이 아니고, 저를 아끼고 사랑해 주신 모든분들과 함께 한 것이며, 아울러 학위과정 중 알게된 모든 지식과 경험들이 좋은 일 에 쓰여지길 간절한 마음으로 바랍니다.

그리고 나를 아는 모든 분들에게도 짧은 글로나마 감사의 마음을 전합니다.

2009년 6월 논문을 마치며... 강 영 주 올림