

PF13) *Klebsiella pneumoniae*에 의한 NO_3^- 의 호기성 탈질

정경훈*, 김세영, 임병갑, 최형일¹, 박상일, 김영주²

조선대학교 환경공학과 BK21 바이오가스기반 수소생산 사업
팀, ¹조선대학교 환경공학부, ²전남대학교 농업생명과학대학

1. 서 론

생물학적 질소제거를 위한 두 가지 주요 메커니즘은 질산화-탈질이다. 질산-탈질화에 있어서 질소의 감소는 두 변환 단계에서 이루어진다. 첫 단계에서는 호기성 조건하에서 질산화 독립영양 박테리아가 NH_4^+ 를 NO_3^- 로 질산화 하고 두 번째 단계에서는 무산소 조건하에서 탈질 박테리아가 NO_3^- 를 N_2 로 전환시키며 수중에서 대기 중으로 방출된다.

최근에는 *Thiosphaera pantotropha*가 혼합된 활성슬러지 프로세스에서 NO_3^- 의 호기적 탈질을 보고한바있고(Mona Kshirsagar et al., 1995), 또한 *Alcaligenes faecalis*에 의한 NH_4^+ 의 호기적 탈질을 보고한 바 있으며(Joo et al., 2005), 여러 종류의 prokaryotic와 eukaryotic heterotrophs가 NH_4^+ 를 NO_2^- 또는 NO_3^- 로 질산화 할 수 있음도 알려져 있다. 이러한 미생물들은 단일반응조에서 질소제거가 가능하기 때문에 폐수처리에 있어서 흥미가 있을 것으로 생각된다. 이러한 관점에서 김 등은 유기물과 암모니아성 질소와 질산성 질소를 동시에 제거하는 균주를 분리하여 배양조건을 확립한 바 있다. 본 연구에서는 질소 제거에 새로운 방법을 개발하고자 김 등의 분리한 *Klebsiella pneumoniae*를 사용하여 합성배지 중의 NO_3^- 를 호기적으로 제거하는데 있어서의 C/N비, 탄소원, 질소농도 등의 영향을 검토하였다.

2. 연구방법

2.1. 균주

본 실험에 사용한 균주는 토양에서 분리한 *Klebsiella pneumoniae*이다(Kim et al., 2005).

2.2. 합성배지

균주 배양에 사용한 분해배지의 조성은 Table 1과 같으며, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 는 별도로 조제하여 autoclave로 살균한 후 사용하였다.

2.3. 실험방법

실험은 500 mL 삼각플라스크에 150 mL의 배지를 넣고 *K. pneumoniae* 전 배양액 1%를 접종하여 30 °C에서 140 rpm으로 진탕배양하였다.

- 1) C/N비에 따른 NO_3^- 의 제거효율을 확인하기위한 실험은 glucose의 농도를 조절하면서 C/N비 2.5 ~ 34.3이 되도록 하였다.
- 2) 질소원의 농도에 따른 제거효율을 알아보기 위한 실험에서는 배지 중 NaNO_3 의 농도

- 를 50 mg/L ~ 700 mg/L이 되도록 조절하였고(C/N비 : 5)
- 3) 탄소원에 따른 제거효율을 확인하기 위한 실험에서는 배지중의 glucose대신에 methanol과 acetate를 사용하였다(C/N비 : 5).
 - 4) *K. pneumoniae* 초기 cell농도에 따른 실험에서는 전배양액을 0.5%, 1%, 2% 및 4%가 되도록 접종하였다.

Table 1. Composition of synthetic wastewater

Components	Concentration
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	15 g
KH ₂ PO ₄	3 g
Glucose	30 g
NaNO ₃	2.12 g
NaCl	0.5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
FeCl ₃ · 6H ₂ O	27.03 mg
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	2 mg
H ₂ O	1000
pH	7.1

2.4. 분석방법

NO₃-N는 수질오염공정시험법에 준하여 분석하였으며, pH는 pH meter(HM-20S, TOA)를 사용하여 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1. C/N비 변화에 따른 NO₃-N 제거

C/N비 5 ~ 34.3일 때 NO₃-N는 15시간만에 완전히 제거되어 낮은 C/N비 5에서도 질소 제거가 가능함을 알 수 있었다. 그러나 C/N비 2.5인 경우 NO₃-N는 55%만 제거되었다 (Fig. 1).

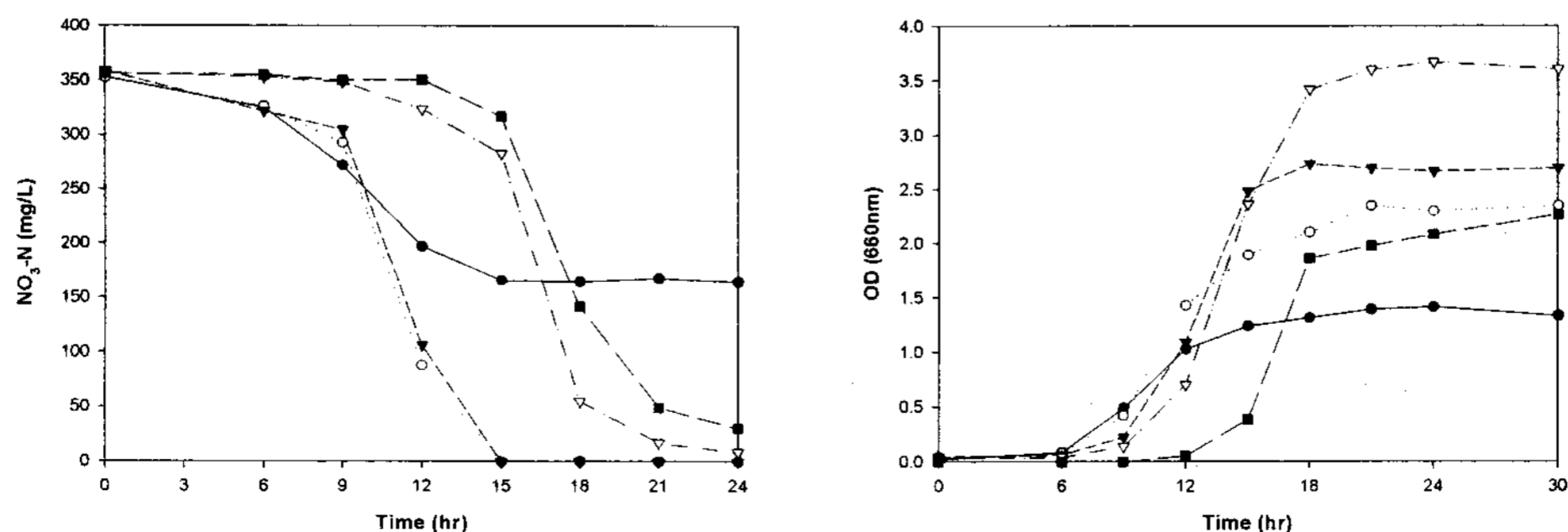


Fig. 1. Effects of C/N ratios on NO₃-N removal. Symbols : ● C/N 2.5, ○ C/N 5, ▼ C/N 10, ▽ C/N 20, ■ C/N 34.3.

3.2. 탄소원 변화에 따른 NO₃-N 제거

탄소원으로 glucose를 사용하면 NO₃-N의 제거가 가능하나 acetate와 methanol을 탄소원으로 사용하였을 때는 NO₃-N가 전혀 제거되지 않았고 균 또한 증식하지 않았다. 따라서 NO₃-N를 제거하기 위해서는 탄소원으로 glucose를 이용하는 것이 바람직하다(Fig. 2).

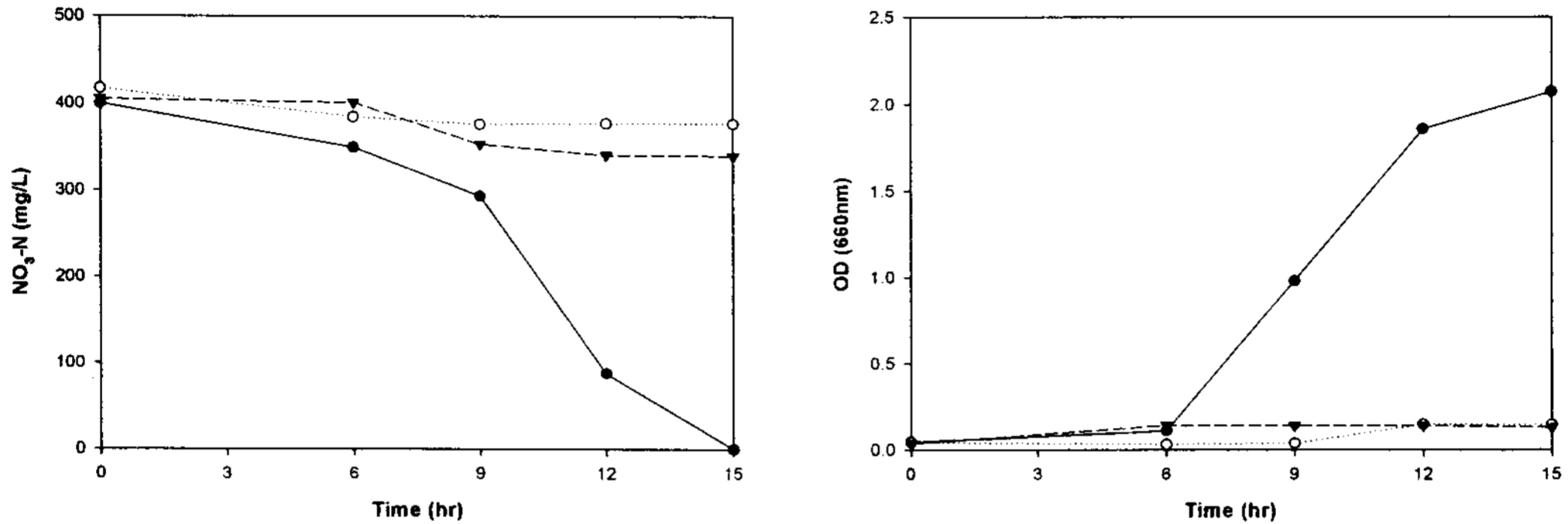


Fig. 2. Effects of different carbon sources on NO₃-N removal. Symbols : ● glucose, ○ acetate, ▼ methanol.

3.3 초기 질소 농도에 따른 NO₃-N 제거

Fig. 3은 초기 질소농도에 따라 NO₃-N의 제거 변화를 나타낸 것이다. 초기 NO₃-N 농도는 50 mg/L ~ 700 mg/L이다. NO₃-N의 경우에는 350 mg/L에서도 실험 15시간 이면 완전히 제거되었으나 초기 NO₃-N 농도 700 mg/L일 때는 24시간동안 약 78% 밖에 제거 되지 않았다. 한편 cell growth를 보면 질소농도에 비례하여 Optical density값이 증가됨을 알 수 있었다.

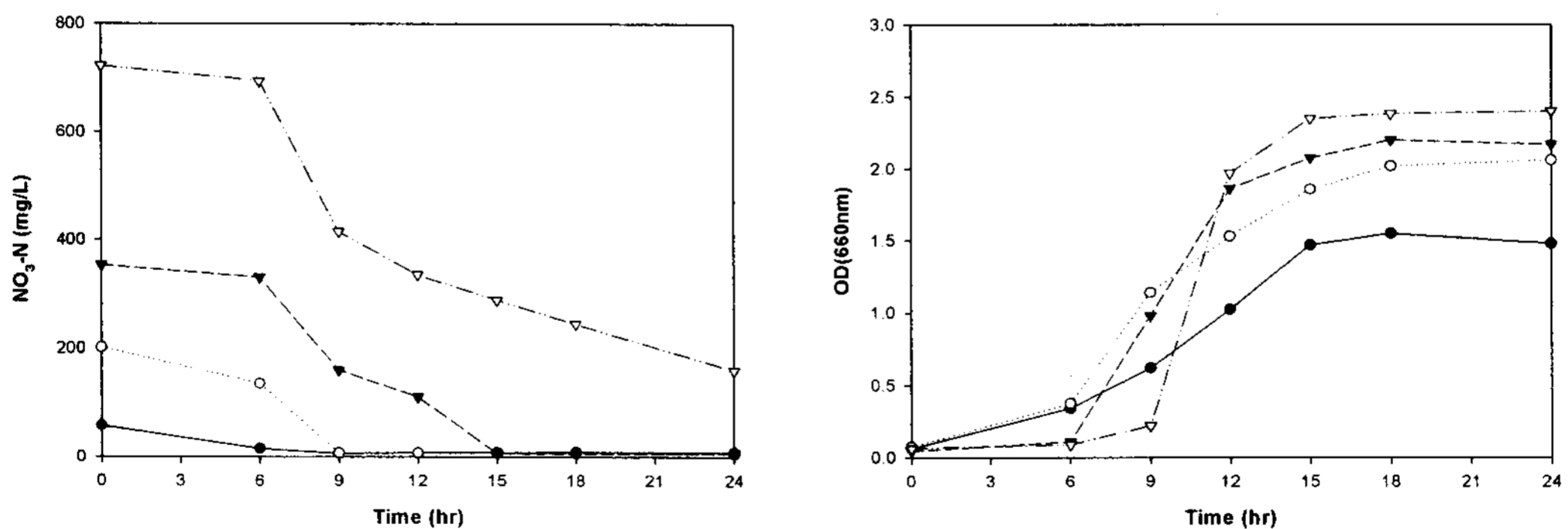


Fig. 3. Effects of different nitrogen concentrations on NO₃-N removal. Symbols : ● T-N 50 mg/L, ○ T-N 175 mg/L, ▼ T-N 350 mg/L, ▽ T-N 700 mg/L.

3.4 초기 cell 농도에 따른 NO₃-N 제거

Fig. 4에는 실험초기의 접종 cell 농도에 따른 NO₃-N의 제거변화를 나타내었다. NO₃-N의 경우에는 초기 cell농도 4%를 접종하였을 때 약 12시간만에 제거되었으나 0.5%를 접종하였을 때에는 약 93%정도 제거 되었다. 이와 같이 접종하는 cell농도가 많으면 NO₃-N 제거시간

이 단축되나 1%이상이면 NO₃-N가 제거되는 시간은 비슷하였다. 한편 cell growth는 접종하는 cell농도가 많을수록 빠르게 균이 증식하였고, 최종 cell 농도는 비슷한 값을 나타내었다.

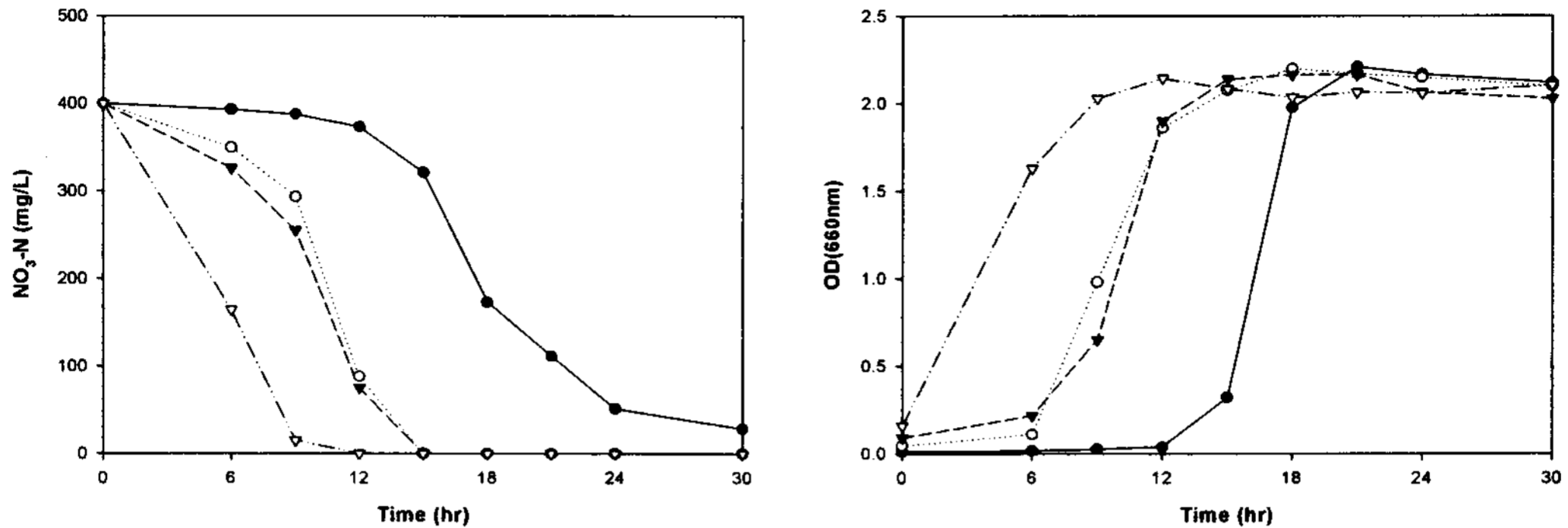


Fig. 4. Effects of different cell concentrations on NO₃-N removal. Symbols : ● 0.5%, ○ 1%, ▼ 2%, ▽ 4%.

4. 결 론

*Klebsiella pneumoniae*균을 사용하여 NO₃-N의 제거를 위한 C/N비, 탄소원, 질소농도 및 cell농도에 대한 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- C/N비 5이상이면 NO₃-N의 제거가 가능하였으며
- 탄소원으로는 glucose를 사용하였을 때 NO₃-N의 제거가 가능하였으나 methanol과 acetate를 탄소원으로 사용할 수 없었다.
- 질소 농도 350 mg/L는 NO₃-N을 완전히 제거 가능하였으나 질소농도 700 mg/L에서는 약 78%만 제거 되었으며
- 초기 접종하는 cell양이 많으면 질소 제거 시간이 단축 되었다.

참 고 문 헌

- 김영철, 정팔진, 안익성, 2005. 자연현상을 이용한 질산화-탈질공정에 의한 하루처리장 유출수의 질소제거, 대한환경공학회지, 27권, 3호, 323-329
- Mona Kshirsagar, A. B. Gupta, S. K Gupta, 1995. Aerobic denitrification studies on activated sludge mixed with *Thiosphaera pantotropha*, Environmental Technology, 16, 35-43
- Hung-Soo Joo, Mitsuyo Hirai, Makoto Shoda, 2005. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* no. The Society for Biotechnology, 100, 184-191
- Kuenen, J. G. and Robertson, L. A, 1994. Combined nitrification-denitrification processes. FEMS Microbiol. Rev., 15, 109-117
- 김영주, 송영채, 김종오, 박홍석, 2005. 혐기성 상태에서 암모늄 이온과 질산성 질소를 제거하는 미생물의 분리 및 배양조건, Microbiol. Biotechnol, 33권, 1호, 65-69