

혐기성 상태에서 질산염 폐액 탈질 미생물의 분리

이오미, 오종혁, 황두성, 최윤동, 황성태, 박진호, 조병렬*, 이상준**

한국원자력연구소, 대전광역시 유성구 덕진동 150번지

*충주대학교, 충북 충주시 이류면 검단리 123번지

**부산대학교, 부산광역시 금정구 장전동 산 30번지

lomi@kaeri.re.kr

최근 질산성 질소성분에 대한 규제가 강화되면서 고농도의 질소함유 폐수의 경제적 처리에 대한 관심이 증대되고 있다. 현재 일반적으로 사용되는 생물학적 질산성질소 제거는 질산화($N \rightarrow NO_3$)와 탈질($N \rightarrow N_2/NO_3 \rightarrow N_2$)로 이루어지며, 이러한 공정은 반응과정에 탄소원과 용존산소를 필요로 하기 때문에 상당한 비용을 필요로 한다. 미생물을 이용한 생물학적 탈질은 폐수 내에 함유된 nitrate를 제거할 수 있는 효율적인 방법 중의 하나이지만, 대부분의 연구개발은 NO_3^- -N의 농도가 50 g/m^3 이하 하수나 농업용수 내에 함유된 nitrate 제거에 집중되어 있었다. 1974년 ORNL에서 우라늄 정제과정에서 발생한 폐액에 함유된 고농도($1.0 \text{ kg } NO_3^-$ -N/ m^3)의 nitrate를 제거하기 위하여 생물학적 탈질공정을 선정하고 시험을 시작한 이래로 stirred bed reactor 형의 대규모 처리시설이 Y-12 plant에 설치 운영되고 있으나 110,000 ppm 정도의 고농도 질산염 폐액 처리를 위해서 100 ppm 이하로 희석하여야할 정도로, 고농도의 폐액을 처리할 수 있는 균주의 개발 및 공정의 최적화가 필요하다.

우라늄 변환시설 가동 중 발생하여 라군(lagoon)에 저장되어 있는 방사성 슬러지 폐기물에 대한 처리는 시설 해체과정에서 매우 중요한 업무 중 하나이다. 라군은 변환시설 가동 중에 발생한 모든 폐액을 수집하기 위한 인공연못으로, 두 개로 구성되어 있다. 현재 라군에 저장중인 슬러지는 약 250 m^3 의 양으로, 여러 단위공정에서 발생한 폐액 혼합물뿐만 아니라 공장 가동 초기 시설 제염 폐액 및 조업 실패로 인하여 발생한 여러 가지 폐액 등으로 인하여 매우 복잡한 조성으로 이루어져 있으며, 이들 중 대부분은 정제과정의 raffinate와 AUC(ammonium uranyl carbonate) 침전 여액의 처리 후 폐액이다. 두 개의 라군 모두 물리적으로는 최상층에 여러 질산염의 포화용액, 중간층에 결정형, 하층부에는 입자상 형태의 침적물로 이루어져 있다. 화학적으로는 NH_4NO_3 , $NaNO_3$, $Ca(NO_3)_2$, $CaCO_3$ 및 U 등으로 구성되어 있다. 이들 성분 중 대부분을 차지하는 질산염은 미생물 분해를 통해 폐기물의 감용을 이룰 수 있으며, 이는 환경적 측면뿐만 아니라 폐기물 처분 비용 절감 차원에서도 최선의 목표라 할 수 있다. 본 연구에서는 라군 주변 토양 및 하수처리장에서 채집한 미생물 중에서 질산염 분해 균주를 분리하고 이들의 최적 배양조건을 확립하는 것을 목표로 하였다.

라군 주변 토양 및 하수처리장에서 총 3종의 시료를 채취하여 그중 1g의 시료를 0.85% NaCl 용액 50ml에 혼합하여 2시간동안 진탕하고 30분간 정치시킨 후, 상등액 1.0 ml를 0.1% NH_4NO_3 배지 9.0ml에 첨가시켜 30°C 에서 혐기배양 하였다. 이 시험관 중에서 기포가 발생한 시험관 속의 배양액을 추출하여 0.1% NH_4NO_3 한천배지에 도말하였다. 여기서 생육한 18종의 균주를 순수 분리하여, 다시 0.1% NH_4NO_3 액체배지에서 질산염 제거효율을 관찰하며 3종의 균주를 분리하였다. 이들 3종의 균주는 각각 KUC-4, KUC-5, KUC-16으로 명명하였으며, 이들 균주를 이용한 NH_4NO_3 분해실험을 실시하였다.

질산염 농도에 따른 분해능을 비교하기 위해 0.1%, 0.2%, 0.3% NH_4NO_3 배지에서 각각 균주를 배양하였다. 배지 조성은 Table 1에 나타낸 바와 같으며, 각각 1g, 2g, 3g NH_4NO_3 를 1l 용액에 녹여서 사용하였다. Fig. 1~3에는 0.1, 0.2, 0.3% 농도 질산염 배지에서 배양했을 때, 시간 경과에

따른 잔류 질산염 농도와 균주 농도(O.D. at 650nm)를 나타내었다. 배지 질산염 농도가 0.1%인 경우, KUC-4, KUC-5, KUC-16 모두 질산염이 완전히 소모될 때까지 48시간이 소요되었으며, KUC-4는 24시간 이내에 질산염의 완전 분해가 가능하였다. 0.2% 질산염 배지에서 배양하였을 경우 KUC-4와 KUC-5는 48시간 이내에 질산염 분해가 완료되었지만 KUC-16은 54시간이 소요되었다. 0.3% 질산염 배지의 경우에는 KUC-4만이 48시간 이내에 질산염을 완전 분해하였고, 다른 두 개의 균주는 상대적으로 고농도에 의한 저해효과가 발생하는 것으로 판단되었다. 질산염 농도에 따른 KUC-4의 질산염 분해성능을 비교할 때, Fig. 4에 보인 바와 같이 0.3%의 질산염 배지가 가장 효과적이었으며, 향후 0.3% 이상의 고농도에 적용 가능성을 평가해야 할 것이다. 이들 세 개의 균주 중에서 가장 좋은 효과를 보인 KUC-4에 대한 16sRNA 유전자 해석결과 *Pseudomonas fluorescens*와 98.2% 상동성을 보였으며 이 균주를 *Pseudomonas fluorescens* KUC-4라 명명하였다. 향후 *P. fluorescens* KUC-4를 이용한 질산염 분해 공정의 최적화를 위한 공정변수를 확립하고, 공학적 적용성을 높이기 위한 미량원소의 효과를 평가하여 배양조건을 확립하고자 한다.

Table 1. NH₄NO₃ medium in 1ℓ water

NH ₄ NO ₃	1 / 2 / 3 g
Asparagine	1 g
C ₆ H ₅ O ₇ Na ₃ ·2H ₂ O	8.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
FeCl ₂ ·6H ₂ O	0.005 g
KH ₂ PO ₄	1 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2 g

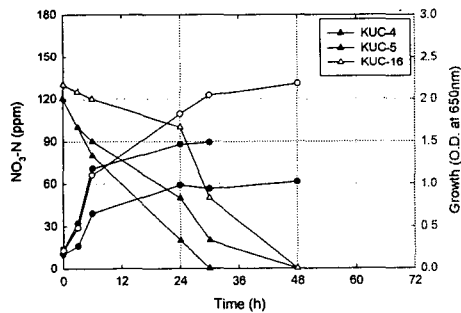


Fig. 1. Incubation at 0.1% NH₄NO₃ medium (Δ; NO₃-N and ○; O.D).

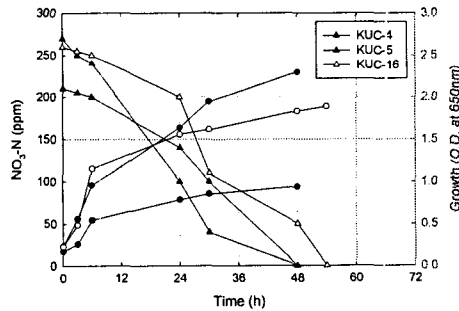


Fig. 2. Incubation at 0.2% NH₄NO₃ medium (Δ; NO₃-N and ○; O.D).

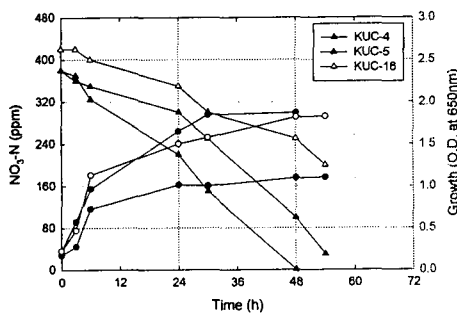


Fig. 3. Incubation at 0.1% NH₄NO₃ medium (Δ; NO₃-N and ○; O.D).

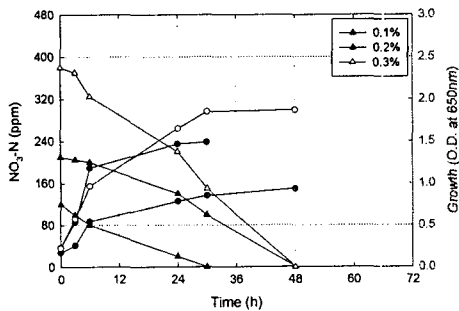


Fig. 4. Incubation with KUC-4 at different NH₄NO₃ concentration medium (Δ; NO₃-N and ○; O.D).