

하 · 폐수 고도처리를 위한 다기능의 질소원 분해능 균주의 분리

이진용 · 김진수 · 공성호¹ · 심호재² · 이상섭*

¹한양대학교 화학공학과, ²토목환경 공학과, 경기대학교 이과대학 생물학과

한국 경기도 일대의 하천으로부터 90 균주의 광합성 박테리아를 순수 분리·동정하였다. 이들중 고효율의 질소(NH₃-N, NO₃⁻-N)제거능을 가진 균주들을 다양한 조건(명처-혐기, 호기: 암처-혐기, 호기)하에서 선별하였다. NH₃-N은 위의 4 가지 조건하에서 모든 균주가 제거하였고, 평균 제거율은 호기조건(83.8%)에서 혐기조건(75.1%)보다 약간 높게 나타났다. NH₃-N의 감소에 따른 NO₃⁻-N증가는 일어나지 않았다. NO₃⁻-N은 혐기조건에서 소수의 특정 균주에 의해 제거되었다. 명처-혐기조건에서 다양한 CODcr (mg/L)/biomass (mg/L)에 따른 실험 결과는 CODcr (mg/L)/biomass (mg/L) 0.2에서 유기물(98.2%)과 NH₃-N (89.0%)의 제거율이 가장 높게 나타났다. 명처-혐기조건에서 다양한 C/N 비율에 따른 실험 결과는, 높은 C/N비 뿐만 아니라 낮은 C/N비(5:1)에서도 NH₃-N의 효과적인 제거율(75.8%)을 확인 할 수 있었으며, 또한 NO₃⁻-N (96.0%)의 동시적 제거를 확인할 수 있었다.

Key words □ ammonia, nitrate, photosynthetic bacteria, *Rhodocyclus gelatinosus*

최근들어 급격하게 이루어지고 있는 산업화 및 도시화로 인하여 자연환경과 생활환경은 더 이상 방치할 수 없을 정도로 악화되고 있고, 특히 수질 오염에 있어서는 그 정도가 날이 심각해져 전국의 주요 수역과 해역에서 많은 문제가 발생하고 있다. 그중 하천, 호소 등의 수질오염은 그 영향이 가장 심각한 곳인데, 많은 수질 오염원 중에서도 산업폐수와 더불어 생활하수가 수질오염의 주요원인이 되고 있다(7,11,14).

우리나라 하수처리의 문제는 주된 하수 처리 발생원인 가정하수 내에 포함된 유기물의 양이 적다는 것이다. N, P에 대한 유기물 비가 작아 영양염류 제거가 잘 이루어지지 않고 있다. 또한 현재 가동중인 국내 대부분의 하수처리장은 2 차 처리장으로 표준화성슬러지 공정이나 그 변형들이 주종을 이루고 있어 호소의 부영양화 방지 및 환경규제 강화에 따른 방류수 수질기준을 만족시키기에는 많은 어려움이 있다(1,2). 이런 상황에서 배출되는 방류수의 질소, 인 같은 영양염류는 방류 수역에서 조류의 과도한 증식과 부영양화를 촉진시켜 수서 생태계의 파괴는 물론, 인근 토양의 질산화로 토양의 황폐까지 초래하고 있어 환경 전반적으로 커다란 문제로 대두되고 있다. 이런 문제를 해결하기 위한 폐수처리 방법이 꾸준히 발전해 왔으며, 이에 따른 생물학적 연구 또한 활발히 진행되어 왔다. 대부분의 생물학적 처리는 활성 슬러지를 사용하고, A²O를 다양하게 변형한 여러 공법들이 개발되어왔다. 최근 들어, 특정 토양 박테리아를 우점화한 공정들이 개발되었고, 이들에 대한 연구가 계속되고 있다.

이제까지 고도처리 시스템에서 사용되었던 질소제거(NH₃-N, NO₃⁻-N)방법은 호기상태에서 질산화 균에 의하여 NH₃-N을 질산

화시키고, 혐기상태에서 탈질균에 의하여 NO₃⁻-N을 탈질시키는 것이었다. 이와같이 다른 환경상태에서 다른 균주들에 의해 단계로 질소를 제거하여야 하므로 시스템도 복잡하여지고, 유지관리도 힘들고, 더구나 오염물간의 농도비에 제한성이 있으므로 효율성도 떨어지고 있다(9,19,21,25,27).

박테리아에 의하여 이루어지기를 무기질소 대사는 다양한 과정이 이미 알려져 있다. 특히 ANAMMOX 경우는 혐기적 암모니아 산화과정으로 암모니아를 전자 공여체로 아질산을 전자수용체로 사용하여 단번에 암모니아와 아질산을 N₂로 변환시킨다(2,4,10,18,19). 이와같이 여러 가지 다른 효소들에 의해 간단하게 암모니아와 아질산을 처리할 수 있는 박테리아를 선별하여 최적화 시킨다면 고효율의, 유지관리가 용이한 시스템을 개발할 수 있고, 또한 2 차 처리 상태로 되어있는 기존 처리장을 경제적이고, 고효율인 고도처리장으로 개보수 할 수 있을 것이다.

광합성 박테리아에는 매우 다양한 박테리아들이 포함되어있고, 더구나 16S rRNA 분석법이 실시되면서 phototrophic bacteria 사이의 유연관계보다도 토양내의 non-phototrophic bacteria와의 유연관계가 더 깊게 나타나 이들을 모두 합쳐 proteo bacteria라 명명하였다(6). 또한 광합성 박테리아 중 일부는 광합성, 무기호흡, 유기호흡, 화학합성 등 각기 다양한 방법으로 살아갈 수 있으며 유기물 분해능도 높고, 특히 혐기-암처에서 성장시 nitrate, nitrous oxide, dimethyl sulfoxide, 혹은 trimethylamine-N-oxide 등을 전자수용체로 이용할 수 있는 균주도 있다. 광합성 박테리아는 유기물농도가 높은 일반하수 뿐만 아니라 다양한 산업폐수의 자연 정화과정에서도 중요한 역할을 한다. 일본에서는 이미 Kobayashi 등이 1970년대부터 광합성 박테리아를 이용한 폐수처리 시스템을 연구하였고, 실제 하수처리장 등에 적용한 사례가 많다(15-17).

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 031-249-9642, Fax: 031-251-4721
E-mail: sslee@kyonggi.ac.kr

따라서 본 연구에서는 신설되는 하수 고도처리장 뿐만아니라 기존의 2 차처리 시스템의 처리장을 경제적으로 고도처리 시스템으로 개보수할 수 있는 하수 고도처리시스템을 개발하기 위하여 다양한 대사능을 가진 광합성 박테리아를 하천 및 토양으로부터 분리 동정하고, 이들의 질소 분해능을 스크리닝하여, 다기능, 고효율의 균주를 개발하고자 한다.

재료 및 방법

광합성 균주의 순수분리 및 동정

균주 분리원은 경기도내 논과 공장부근의 오염된 하천수였다. 오염수는 바닥의 흙과 함께 채취하였으며, pH는 6.6~7.4, 온도는 9.5~10.5°C, 수심은 5~10 cm였다. 기본 무기배지는 27 M (DSM) (5)을 사용하였고, 배지의 pH는 6.8로 조절하였다(Table 1). 고히 배지는 27 M에 agar를 1.5% 첨가하였다. 배양은 조도, 2,000 lux 에 온도는 28°C±2°C인 배양기에서 실시하였으며, 균주의 동정은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (12)과 Van Niel (23), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (22)에 따라 실시하였다.

질소제거 효율이 높은 균주의 선별

순수 분리해낸 90 개의 광합성 균주들을 계대배양한 다음 ammonia와 nitrate 제거 효율이 높은 균주를 스크리닝 하였다. 스크리닝에 사용한 배지는 27 M (DMS) medium을 변형하여 사용하였다. 유기물 농도는 27 배지 성분 중 yeast extract를 제

Table 1. Chemical compounds of 27 medium (DMS)

| | |
|---|---------|
| Yeast extract | 1 g |
| Absolute ethanol | 0.5 ml |
| Disodium succinate hexahydrate | 1 g |
| NH ₄ Cl | 0.4 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.5 g |
| NaCl | 0.4 g |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 0.4 g |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 0.05 g |
| Ferric citrate solution (5%) | 1 ml |
| Trace element solution (SL-6) | 1 ml |
| Distilled Water | 1000 ml |
| Adjust pH to 6.8±0.5 | |
| Trace elements solution SL-6 | |
| H ₃ BO ₃ | 200 mg |
| MnSO ₄ · 4H ₂ O | 210 mg |
| Na ₂ MnO ₄ · 2H ₂ O | 75 mg |
| ZnSO ₄ · 7H ₂ O | 24 mg |
| Ca(NO ₃) ₂ · 3H ₂ O | 4 mg |
| Distilled Water | 1000 mg |

거하고, ethanol과 disodium succinate를 이용하여 SCODcr의 농도를 200 mg/L로 맞추고, NH₃-N의 농도는 NH₄Cl을 이용하여 100 mg/L로, NO₃⁻-N의 농도는 NaNO₃를 이용하여 100 mg/L로 조성하였다.

실험조건은 NH₃-N 제거의 경우에는 명처(호기, 혐기), 암처(호기, 혐기)에서 진행하였으며, NO₃⁻-N 제거의 경우에는 명처-혐기, 암처-혐기에서 실시하였다. 배양 후 12 시간 뒤 각각의 제거 양상을 ion exchange chromatography를 이용하여 측정하였다.

CODcr/Biomass 비에 따른 유기물 제거율

CODcr(mg/L)/Biomass(mg/L) 비를 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025의 5 가지의 조건으로 실험을 진행하였다. 실험에 이용한 균주는 질소제거 효율선별 실험을 통해 질소(NH₃-N과 NO₃⁻-N) 제거율이 우수한 63 균주를 사용하였다. 27 M (DMS) medium을 변형하여 만든 합성폐수(1 L)당 순수균주 0.5, 1, 2, 4, 8 g (wet-weight)씩을 각각 접종하였다. 명처-혐기, 24±2°C로 반응 조건을 설정하고 시간별로 유기물, NH₃-N, NO₃⁻-N 등의 제거율을 측정하였다. 회분식 반응기에서 세포밀도(OD_{650nm})를 측정하고, 채취한 sample을 filtering (MFS-13, pore size 0.2 µm, ADVAN TEC MFS, Inc.)하여 SCODcr, NH₃-N과 NO₃⁻-N 등을 측정하였다.

C/N ratio에 따른 광합성 균주의 회분식 실험

회분식 실험에 이용한 배지는 27 M (DMS) medium을 변형하여 만든 합성폐수에 SCODcr의 농도를 200, 400, 600, 800 mg/L로 변화를 주고, NH₃-N의 농도는 NH₄Cl을 이용하여 20 mg/L로 맞추고, NO₃⁻-N의 농도는 NaNO₃를 이용하여 20 mg/L로 제작하여 사용하였다. 즉, 실험 배지는 C/N ratio가 5:1, 10:1, 15:1, 20:1로 조성하였으며, 균주는 배지 L당 1 g(wet-weight)을 접종하였다. 실험의 진행은 명처-혐기 조건, 24±2°C에서 실시하였다. 시간별로 시료를 채취하여 SCODcr, NH₃-N과 NO₃⁻-N등을 측정하였다.

분석 및 방법

폐수의 성분 분석에 있어 NH₃-N, NO₃⁻-N, SCODcr의 분석은 Standard Methods (8)에 준하여 실시하였으며, pH는 pH meter (Orion Model SA720, Orion, USA)를 사용하였다. 균주의 성장률을 비롯한 흡광도의 측정은 spectrophotometer (Uvikon 914 Plus, Kontron Instrument, Italy)를 통해 측정하였다.

결과 및 고찰

광합성 박테리아의 순수분리 및 동정

한국 경기도 일대의 하천으로부터 광합성 bacteria 90 균주를 분리하였고, 이를 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (12)과 Van Niel (23), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (22)의 연구방법에 따라, 12 균주는 *Rhodospseudomonas blastica*로, 8 균주는 *Rhodocyclus gelatinosus*로, 6 균주는

Table 2. NH₃-N removal efficiency by phototrophic purple nonsulfur bacteria under variable conditions

| sample No. | Light-Aerobic | | | Light-Anaerobic | | | Dark-Aerobic | | | Dark-Anaerobic | | |
|------------|---------------|-------|------|-----------------|-------|------|--------------|-------|------|----------------|-------|------|
| | 0 hr | 12 hr | Rem. | 0 hr | 12 hr | Rem. | 0 hr | 12 hr | Rem. | 0 hr | 12 hr | Rem. |
| 34 | 123 | 36.3 | 70.5 | 123 | 35.3 | 71.3 | 123 | 40.8 | 66.8 | 123 | 32.8 | 73.3 |
| 58 | | 21.5 | 82.5 | | 62.5 | 49.2 | | 29.6 | 75.9 | | 74.4 | 39.5 |
| 63 | | 37.9 | 69.2 | | 56.9 | 53.7 | | 39.7 | 67.7 | | 69.1 | 43.8 |
| 74 | | 54.7 | 55.5 | | 31.5 | 74.4 | | 60.6 | 50.7 | | 61.0 | 50.4 |
| 78 | | 51.8 | 57.9 | | 49.3 | 59.9 | | 18.0 | 85.4 | | 42.6 | 65.4 |

0 hr, concentrations (mg/L) of the NH₃-N; 12 hr, concentrations (mg/L) of the NH₃-N after 12 hour reaction; Rem, removal rate (%) of the NH₃-N for 12 hours

*Rhodocyclus tenuis*로, 5 균주는 *Rhodobacter capsulatus* 그리고 5 균주는 *Rhodospseudomonas rutila*로 동정되었다. 나머지 54 개 균주는 미동정되었다.

질소제거효율이 높은 균주의 선별

순수 분리된 90 개의 균주에 대해 여러조건(명처-호기, 혐기/암처-호기, 혐기)에서 NH₃-N과 NO₃⁻-N의 제거율을 실험한 결과, NH₃-N의 경우에는 균주 90 개 모두에서 제거 효율을 보였으나 균주에 따라 조건에 따라 차이가 있었다. 명처-호기조건에서 65.0%(82.5%~40.6%), 암처-호기의 조건에서 64.5%(85.4%~45.5%), 명처-혐기 조건에서 49.2%(74.4%~21.8%), 그리고 암처-혐기의 경우에는 41.2%(73.3%~13.1%)로 각각 제거율이 나타났다. 혐기보다는 호기의 조건에서 제거율이 높게 나타났고, 호기시에는 제거율이 빛에 무관하게 거의 같게 나타났고, 혐기시에는 명처가 약간 높은 것으로 나타났다(Table 2).

광합성 박테리아의 암모니아 흡수에 대한 연구는 이들의 이동에 관한 분석의 어려움 등으로 인하여 잘 이뤄지지 않고 있다. 그러나 암모니아 대신 메틸암모니아를 사용한 몇가지 연구 결과에 의하면 많은 종의 광합성 박테리아가 하나 이상의 NH₄⁺ 흡수체를 갖고있고, 이들이 NH₄⁺ 동화과정과 긴밀한 연관관계가 있다는 것이 밝혀졌다. 또한 많은 박테리아에서 K⁺과 NH₄⁺가 같은 운반자를 통하여 전달된다는 것이 밝혀졌다(26).

토양내 질화 박테리아는 암모니아를 에너지를 얻는데 사용하지만 광합성 박테리아는 이들을 바로 동화작용에 이용한다. 그리고 광합성 박테리아는 명처-혐기시는 광합성을, 명처- 호기시에는 광합성 또는 호흡과정을, 암처-호기시에는 호흡을, 그리고 암처-혐기시는 무기호흡에 의하여 에너지를 얻어 생존할 수 있다 (24).

분석한 모든 광합성 박테리아가 정도의 차이는 있지만 모두 NH₄⁺를 이용한 것은 이들이 세포표면에 많은 종류의 NH₄⁺ 운반 시스템을 갖고있고, 다양한 조건에서 다양한 방법으로 생존할 수 있기 때문이라 생각된다. 즉 광합성 박테리아에 있어서 NH₄⁺는 질화박테리아 경우처럼 에너지원으로 사용되는 것이 아니고 영양염류로 바로 동화에 사용되고 있고, 또한 박테리아내 생리 균형을 유지하는데 중요한 역할을 하기 때문에 박테리아 성장에 꼭 필요한 물질이라 생각된다. 따라서 환경조건에 따른 성장률에

Table 3. NO₃⁻-N removal efficiency by phototrophic purple nonsulfur bacteria under variable conditions

| sample No. | Light-Anaerobic | | | Dark-Anaerobic | | |
|------------|-----------------|-------|------|----------------|-------|------|
| | 0 hr | 12 hr | Rem. | 0 hr | 12 hr | Rem. |
| 1 | 98 | 63.9 | 34.8 | 98 | 77.9 | 20.5 |
| 36 | | 61.4 | 37.3 | | 85.6 | -0.6 |
| 63 | | 68.2 | 30.4 | | 63.3 | 35.4 |
| 68 | | 58.3 | 40.5 | | 69.5 | 22.6 |
| 82 | | 90.8 | 7.4 | | 57.7 | 41.1 |

0 hr, concentrations (mg/L) of the NO₃⁻-N; 12 hr, concentrations (mg/L) of the NO₃⁻-N after 12 hour reaction; Rem, removal rate (%) of the NO₃⁻-N for 12 hours

따라 차이는 있지만 늘 NH₄⁺를 이용할수 있다고 생각된다.

NO₃⁻-N의 경우에는 혐기시에 몇 개의 균주에서만 제거가(최고 41.1%) 일어났다(Table 3). 대부분의 탈질균은 혐기성 종속영양균 주들이 알려져 있으나 최근의 연구결과 광합성 박테리아도 탈질 능이 있는 것이 밝혀졌다. 또한 혐기성 광합성 박테리아는 nitrate를 최종 전자수용체로 이용하는 것으로 밝혀졌다(13).

이제까지 고도처리 시스템에서 사용되었던 질소제거(NH₃-N, NO₃⁻-N)방법은 호기상태에서 질산화 균에 의하여 NH₃-N을 질산화 시키고, 혐기상태에서 탈질균에 의하여 NO₃⁻-N을 탈질시키는 것이었다. 이와같이 다른 환경상태에서 다른 균주들에 의해 단 단계로 질소를 제거하여야 하므로 시스템도 복잡하여지고, 유지관리도 힘이 들고, 더구나 오염물간의 농도비에 제한성이 있으므로 효율성도 떨어지고 있다.

본 연구에서 분리한 광합성 균주를 폐수처리에 이용한다면 같은 조건에서(명처-혐기) 동시에 NH₃-N과 NO₃⁻-N을 제거할 수 있으므로 고효율의, 유지관리가 용이한 시스템을 개발할 수 있고, 더군다나 2 차 처리 상태로 되어있는 기존 처리장을 경제적이고, 고효율인 고도처리장으로의 개 · 보수 할 수 있을 것이다.

CODcr/Biomass 비에 따른 유기물 제거율 실험

명처-혐기조건에서 CODcr/Biomass비(0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025)에 따른 균주 63의 CODcr, NH₃-N의 제거 양상은 Fig. 1 과 같았다. CODcr/Biomass비 0.025에서 CODcr, NH₃-N의 제거

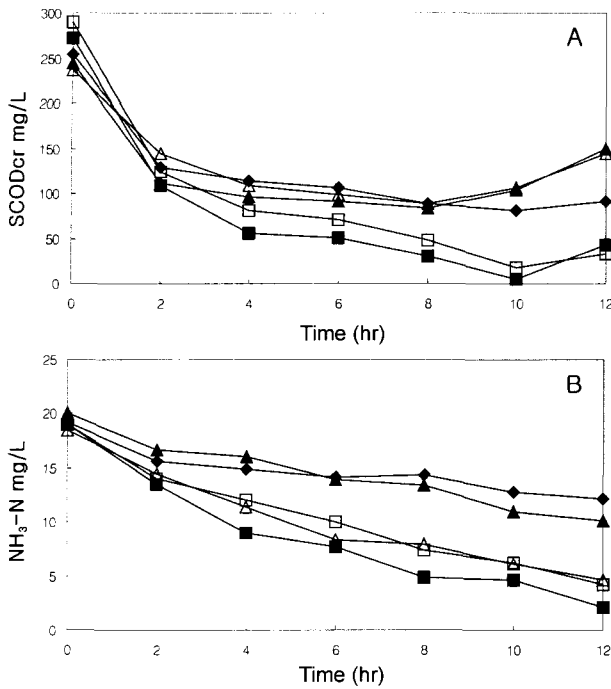


Fig. 1. SCODcr (A) and NH₃-N (B) concentration profile according to the variable CODcr/Biomass ratio under anaerobic condition (CODcr/Biomass ratio ◆, 0.025; ▲, 0.05; △, 0.1; ■, 0.2; □, 0.4)

율은 각기 68.0% (CODcr), 37.1% (NH₃-N)이었고, 0.05에서는 57.3%, 50.0%, 0.1에서는 54.9%, 75.1%, 0.2에서는 98.2%, 89.0%, 0.4에서는 93.9%, 77.9%로 각각 나타났다. 이 연구결과에서 CODcr/Biomass비 0.2 조건에서 유기물과 NH₃-N의 제거율

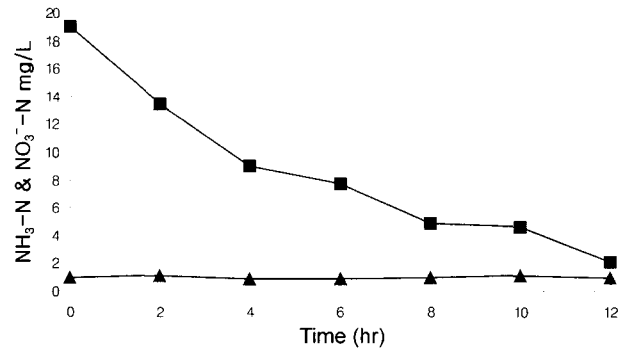


Fig. 2. NH₃-N and NO₃⁻-N concentration profile according to the CODcr/Biomass ratio 0.2 under anaerobic condition (■, NH₃-N; ▲, NO₃⁻-N)

이 각각 98.2%, 89.0%로 가장 우수한 것으로 나타났으며, 낮은 CODcr/Biomass비(0.025, 0.05, 0.1) 보다 높은 CODcr/Biomass비(0.2, 0.4)에서 유기물 및 NH₃-N의 높은 제거율을 보였다. 이 때의 NH₃-N과 NO₃⁻-N의 상관적인 제거양상은 Fig. 2와 같았다.

그림에서 보이는 것처럼 NH₃-N의 제거에 따라 NO₃⁻-N의 증가가 일어나지 않는것은, 광합성 박테리아에 있어서 NH₄⁺는 질화박테리아 경우처럼 에너지원으로 사용되는 것이 아니고 영양염류로 바로 동화에 사용되고 있기 때문이라고 생각된다(3,24).

C/N 비에 따른 광합성 균주의 희분식 실험

명처-혐기 조건에서 균주 63의 C/N 비(5:1, 10:1, 15:1, 20:1)에 따른 NH₃-N, NO₃⁻-N의 제거를 분석결과는 Fig. 3과 같다.

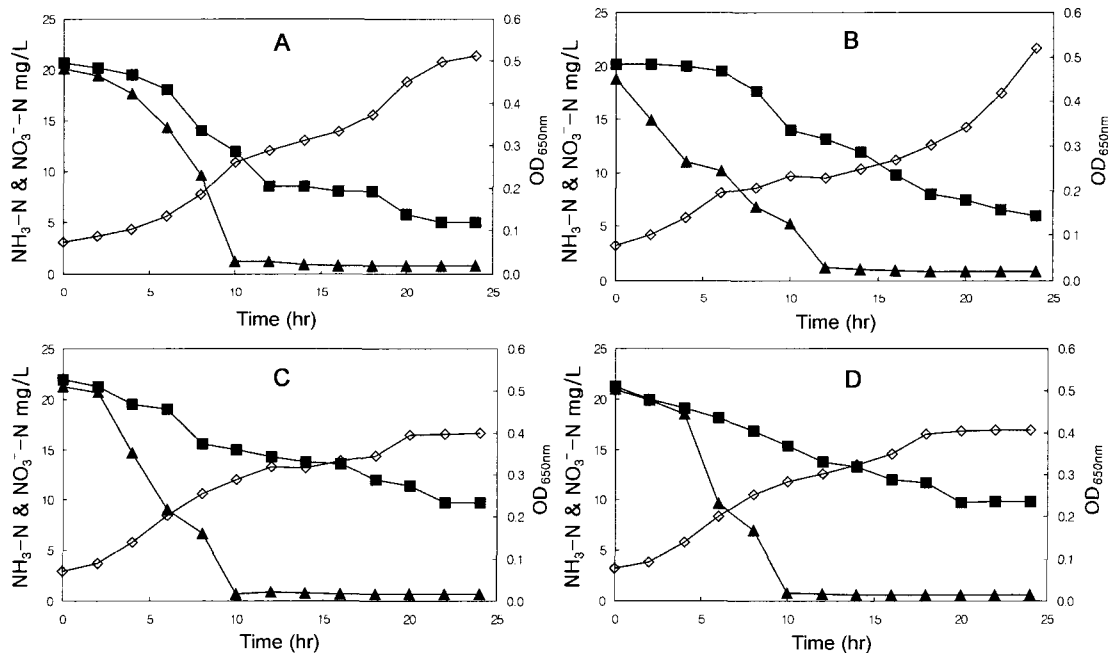


Fig. 3. NH₃-N and NO₃⁻-N concentration, and OD_{650nm} profile according to the variable C/N ratio under anaerobic condition C/N ratio A, (5:1); B, (10:1); C, (15:1); D, (20:1); ■, NH₃-N; ▲, NO₃⁻-N; ◇, OD_{650nm}

가장 특징적인 것은 명처-혐기조건에서 $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 제거가 동시에 이루어진다는 것이다. 일반적인 질화와 탈질화는 각기 다른 박테리아에 의해 다른 환경조건에서 일어나기 때문에 공정이 복잡하고 운전 및 유지관리가 힘든 상태이다. 그러나 본 연구에서 분리된 광합성 박테리아를 실증처리장에 적용 최적화시킨다면 공정이 간단하고, 처리효율이 높은 보다 유지관리가 용이한 시스템을 개발할 수 있으리라 사료된다. 더구나 대부분이 2차처리 시스템인 우리나라의 처리장을 보다 경제적이고 효율적인 고도처리 시스템으로 개선할 수 있으리라 사료된다.

$\text{NO}_3\text{-N}$ 의 제거는 모든 조건에서 96% 내외로 거의 제거되었고, $\text{NH}_3\text{-N}$ 은 C/N 비 5:1과 10:1의 경우는 각각 75.8%, 70.2% 제거되었고, 15:1과 20:1의 경우는 각각 55.7%, 54.0% 제거되었다. 즉, 낮은 C/N비(5:1, 10:1)에서 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 제거율은 높은 C/N비(15:1, 20:1)에서 보다 20% 정도 더 높게 나타났고, 균의 성장을 나타내는 Optical Density 또한 높게 나타났다.

유입수의 유기물 : 질소 : 인의 비율이 100 : 5 : 1일 때 가장 고도처리효율이 높으나 대부분의 우리나라 하수의 C/N 비는 이보다 낮기 때문에 처리효율이 떨어지고 있는 실정이다. 그러나 명처-혐기조건에서 광합성 박테리아를 이용한다면 낮은 농도의 C/N비에서도 질소를 효과적으로 제거할 수 있기 때문에 일반적인 우리나라 하수의 특징인 낮은 유기물 농도에서 질소를 효과적으로 제거할 수 있음은 물론, 일일 또는 계절별에 따른 하 · 폐수의 심한 부하변동에서도 보다 안정성 있게 질소를 제거할 수 있으리라 기대된다.

참고문헌

1. 서인석, 김병근, 이원호, 전향배, 이상일. 1997. 간헐폭기 활성슬러지시스템에서 C/N비가 질소제거 효율에 미치는 영향. 대한환경공학회 춘계학술대회 논문집, G-18, 549-552.
2. 이재우, 송창수, 정태학. 1997. C/N비의 조절을 통한 질소제거효율향상에 관한 연구. 대한환경공학회 춘계학술대회 논문집, G-28, 756-759.
3. Mulder, A., A.A. Van de Graaf, L.A. Robertson, and J.G. Kuenen. 1995. Anaerobic ammonia oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 177-184.
4. Astrid, A., A.A. Van de Graaf, A. Mulder, P. de Bruijn, S.M. Mike, L.A. Jetten, and J.G. Kuenen. 1995. Anaerobic Oxidation of Ammonium Is a Biologically Mediated Process. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1246-1251.
5. Claus, D., P. Lack, and B. Neu. 1983. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen. 265-307.
6. Woese, C.R., E. Stackebrandt, W.G., Weisburg, B.J. Paster, M.T. Madigan, V.J. Fowler, C.M. Hahn, P. Blanz, R. Gupta, K.H. Nealson, and G.E. Fox. 1984. The Phylogeny of purple bacteria : The alpha subdivision. *System. Appl. Microbiol.* 5, 315-326.
7. Drenner, R.W., D.J. Day, S.J. Basham, J.D. Smith, and S.I. Jensen. 1997. Ecological water treatment system for removal of phosphorus and nitrogen from polluted water. *Ecol. Appl.* 7, 318-390.
8. Eaton, A.D., L.S., Clesceri, and A.E. Greenberg. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed., American Public Health Association.
9. Heijnen, J.J., M. Loodsrecht, R. Mulger, R. Welterverde, and A. Mulder. 1993. Development and scale-up of an anaerobic biofilm-lift suspension reactor. *Water Sci. Technol.* 27, 253-261.
10. Schmidt, I. and E. Bock. 1998. Anaerobic ammonia oxidation by cell-free extracts of *Nitrosomonas eutropha*. *Antonie van Leeuwenhoek* 73, 271-278.
11. Jeffries, M. and D. Mills. 1990. Freshwater Ecology: Principles and Applications. Belhaven Press, London.
12. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology (9th ed.). The William & Wilkins. Baltimore.
13. Kim, J.K., B.-K. Lee, S.-H. Kim, J.-H. Moon. 1999. Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from photosynthetic sludge. *Aqua. Eng.* 19, 179-193.
14. Kim, S.W., J.Y. Park, J.G. Kim, J.H. Chio, U.N. Chun, I.H. Lee, J.S. Park, and D.H. Park. 2000. Development of a modified three-stage methane production process using food waters. *Appl. Biochem. Biotech.* 84, 731-741.
15. Kobayashi, M. 1970. Treatment and remediation of waste solution by photosynthetic bacteria. *Chem. Biol.* 8, 604-613.
16. Kobayashi, M. and Y.T. Tchan. 1973. Treatment of industrial waste solutions and production of useful by-products using a photo-synthetic bacterial method. *Wat. Res.* 7, 1219-1224.
17. Kobayashi, M., K. Fujii, I. Shimamoto, and T. Maki, 1978. Treatment and reuse of industrial waste water by phototrophic bacteria. *Prog. Water Tech.* 11, 279-284.
18. Kuai, L. and W. Verstraete. 1998. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4500-4506.
19. Jetten, S.M.M., M. Wagner, J. Fuerst, M. Van Loosrecht, G. Kuenen, and M. Strous. 2001, Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation('anammox') process. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12, 283-288.
20. Mishima, K., T. Nishimura, M. Goi, and N. Katsukura. 1996. Characteristics of nitrification and denitrification of the media anaerobic-anoxic-oxic process. *Water Sci. Technol.* 34, 137-143.
21. Prosser, J.I. 1986. Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 30, 125-181.
22. Pfennig, N. and H.G. Truper, 1989. p. 1635-1709, In Staley, J.T., M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. III. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
23. Van Niel, C.B., 1957. Athiorhodaceae Molisch. In Murray, R.G.E. and N.R. Smith (ed.). Bergey's manual of determination bacteriology, 7th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
24. Vladimirov, V.Y. and T. Beatty. 1998. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 694-724.
25. Watson, S.W., H.H. Bock, H.-P. Koops, and A.B. Hooper. 1989. Nitrifying bacteria, p. 1808-1834. In Staley, J.T., M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. III. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. Md.
26. Walter, G.Z. 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol.* 61, 534-596.
27. Zhang, T.C. and P.L. Bishop, 1996. Evaluation of substrate and pH effects on a nitrifying biofilm. *Water Environ. Res.* 68, 1107-1115.

(Received November 19, 2002/Accepted March 11, 2003)

ABSTRACT: Development of Bacteria for Removal of the Nitrogen in Wastewater

Lee, Jin-Yong, Jin-Soo Kim, Sung-Ho Kong¹, Ho-Jae Shim² and Sang-Seob Lee* (¹Department of Chemical Engineering, ²Department of Civil and Environmental Engineering, HangYang University, Division of Natural Science, Department of Biology, Kyonggi University, Su-Won 442-760, Korea)

Ninety strains of photosynthetic bacteria were isolated from a local stream at Kyonggi-do, Korea and were further screened. Using these isolated strains, experiments were performed under various light and oxygen conditions in order to select strains with high nitrogen (NH₃-N, NO₃⁻-N) removal efficiencies. Results showed that all the strains screened removed NH₃-N, the light had no effect on nitrogen removal, and the nitrogen removal rate was higher aerobically than anaerobically. The removal of NO₃⁻-N was showed up to 35.3% in some specific strains. Results of batch experiments using *Rhodocyclus gelatinosus*, an isolated strain with a superior removal rate for NH₃-N and NO₃⁻-N, under the anaerobic condition, showed that the removal rate of organics and NH₃-N was the highest (98.2 and 89.0%, respectively) at the COD_{Cr} (mg/L)/biomass (mg/L) ratio of 0.2, and the NO₃⁻-N concentration did not increase with the decreasing NH₃-N concentration. Experimental results from various C/N ratios confirmed that the effective removal rate (75.8%) of NH₃-N occurred even at the low (5:1) C/N ratio as well as high ratios, and the simultaneous removal of NO₃⁻-N (96.0%).