

## 돈사폐수의 혐기성 질소제거공정에서 일어나는 특이반응

황인수 · 민경석<sup>†\*</sup>

상주시축산폐수처리사업소 · \*경북대학교 환경공학과

(2005년 10월 11일 접수, 2006년 2월 23일 채택)

### Characteristic Reactions in Anaerobic Nitrogen Removal from Piggery Waste

In-Su Hwang · Kyung-Sok Min<sup>†\*</sup>

Offices Livestock Wastewater Treatment Plant, Sangju, Kyungpook

\*Department of Environmental Engineering, Kyungpook National University

**ABSTRACT :** Anaerobic ammonium oxidation(ANAMMOX) is a novel process for treatment of piggery waste with strong nitrogen. In this study, we investigated acid fermentation of organic matter, denitrification, reduction of sulfur compounds and P crystalization by hydroxyapatite during the treatment of wastewater with high strength of ammonium and organic matters by ANAMMOX process. Also, functions of hydroxylamine and hydrazine as intermediates of ANAMMOX process were tested. This study reveals that various complex-reactions with anaerobic ammonium oxidation of piggery waste are happened and hydroxylamine and hydrazine play an important role in ANAMMOX reaction.

**Key Words :** Anaerobic Ammonium Oxidation, Complex Reactions, Piggery Waste, Intermediates

**요약 :** 혐기성 암모늄산화(ANAMMOX)는 고농도 질소폐수를 처리하기 위한 획기적인 공정이다. 본 연구에서는 고농도 암모늄 및 유기물을 함유한 고농도 폐수를 ANAMMOX 공정을 이용하여 처리하는 동안 일어나는 유기물질의 산발효, 탈질, 황화합물의 환원 및 hydroxyapatite에 의한 인의 결정화에 대하여 연구하였다. 또한, ANAMMOX 공정의 중간생성물인 hydroxylamine과 hydrazine의 기능을 조사하였다. 연구결과, 돈사폐수의 혐기성 암모니아산화 반응과 함께 다양한 복합반응이 일어나며, hydroxylamine과 hydrazine은 ANAMMOX 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다.

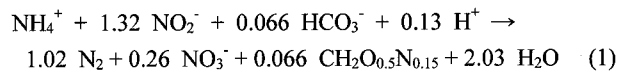
**주제어 :** 혐기성 암모늄산화, 복합반응, 돈사폐수, 중간생성물

### 1. 서론

고농도 질소를 함유하고 있는 돈사폐수는 발생량에 비하여 수계에 미치는 오염부하가 매우 높기 때문에 수질환경 개선을 위해서는 질소제거가 필연적이다. 지금까지 폐수로부터 암모니아를 제거하기 위해서는 주로 질산화/탈질공정을 사용하였으나, 많은 에너지 소요, 공기의 주입, 탈질을 위한 외부탄소원 및 시설의 증대를 요구하는 단점을 가지고 있다. 이러한 문제점은 암모니아성 질소의 아질산성 질소로의 부분 질산화(SHARON, Single reactor system for high ammonium removal over nitrite)와 전자수용체로서 암모니아성 질소와 동시에 아질산성 질소를 이용하는 특이한 탈질반응을 근간으로 하는 ANAMMOX를 적용함으로써 해결할 수 있다.

ANAMMOX는 혐기성 조건하에서 외부탄소원의 첨가없이 암모니아성 질소와 아질산성 질소를 질소가스로 전환시키는 생물학적 공정으로서 세포합성을 포함한 화학양론식은 식

(1)과 같이 표현된다.<sup>2)</sup>



ANAMMOX 공정은 아질산성 질소를 전자수용체로서 사용하기 때문에 유기성 폐수를 ANAMMOX로 처리할 때, 생물학적 질소제거공정에서 독립영양세균인 ANAMMOX 미생물과 종속영양세균인 탈질 미생물 사이에서 동일한 전자수용체인 아질산성 질소에 대하여 경쟁을 유발할 수 있다. 그러나 Dong과 Tollner<sup>3)</sup>는 가금폐수(poultry manure)를 사용한 ANAMMOX의 연구에서 두 반응이 상호 비경쟁적이라는 것을 발견했으며, 이로 인하여 유기성 폐수의 적용가능성을 열어 놓았다. 그들은 NO<sub>x</sub>에 대한 COD가 낮은 혐기성 소화조에서 ANAMMOX 미생물은 탈질미생물과 경쟁하지 않을 수 있다고 보고하였다.

ANAMMOX의 중간생성물에 대한 연구로서, van de Graaf 등<sup>4)</sup>은 <sup>15</sup>N으로 라벨링한 화합물을 이용하여 암모늄이 산화하는 동안 hydroxylamine과 hydrazine이 관여한다는 것을 확인하였다. Jetten 등<sup>5)</sup>은 과잉의 hydroxylamine과 암모늄을 사

<sup>†</sup> Corresponding author  
E-mail: ksmin@knu.ac.kr  
Tel: 053-950-6581

Fax: 053-950-6579

용한 회분식 실험에서 hydrazine의 일시적인 축적을 관찰하였고, hydrazine이 마지막 단계의 중간생성물임을 밝혀냈다.

최근에 본 연구자들은 고농도 돈사폐수와 각각 3,600 mg/L 및 5,000 mg/L인 아질산성 질소 표준용액을 부피비 1:1로 혼합한 기질을 이용하여 돈사폐수로부터 혐기적으로 암모니아를 제거할 수 있었다고 보고하였으며, 물질수지에 의한 제거메카니즘을 규명하였다.<sup>1)</sup> 연구결과 돈사폐수와 각각 3,600 mg/L 및 5,000 mg/L인 아질산성 질소표준액을 기질로 운전한 반응조의 질소제거활성은 각각 0.064 gN<sub>tot</sub>/gVSS-day 및 0.08 gN<sub>tot</sub>/gVSS-day였다. 또한 가스와 반응생성물을 통하여 가능한 반응에 대한 물질수지를 검토한 결과, 3,600 mg/L의 아질산성 질소표준액과 돈사폐수의 혼합기질에서는 NH<sub>4</sub>-N과 NO<sub>2</sub>-N의 제거율이 각각 74% 및 99.8%였다. 제거된 74%의 NH<sub>4</sub>-N 중에서 47%는 ANAMMOX에 의해 제거되었으며, 나머지 27%는 산발효에 의한 감소로 추정되었다. 반면에 NO<sub>2</sub>-N은 82.8%가 ANAMMOX에 관여하였으며, 탈질에 의해 17%가 제거된 것으로 계산되었다. 한편 5,000 mg/L의 아질산성 질소표준액과 돈사폐수의 혼합기질에서는 NH<sub>4</sub>-N과 NO<sub>2</sub>-N의 제거율이 각각 70% 및 100%였다. NH<sub>4</sub>-N은 ANAMMOX와 산발효에 의해 각각 51% 및 19%가 제거되었으며, NO<sub>2</sub>-N은 ANAMMOX와 탈질에 의해 각각 78% 및 22%가 제거된 것으로 추정되었다.

그동안 ANAMMOX에 대한 대부분의 논문들이 합성폐수나 극히 낮은 유기물을 포함한 기질을 사용했기 때문에 복합반응에 의한 해석이 전무하다시피 하였고, 물질수지에 대한 언급 또한 거의 찾아보기가 어려웠다. 그러나 본 연구자들의 경우 고농도 질소 및 유기물을 함유한 돈사폐수를 사용하였기 때문에 이전 보고들과는 달리, 복합반응에 의한 물질수지를 계산하기가 매우 어려웠고, 기초 자료를 구하기가 어려웠다. 따라서 본 논문에서는 고농도 질소와 유기물을 함유한 돈사폐수의 혐기성 질소제거에 있어서 기질 특성상 ANAMMOX와 함께 일어나는 추정 가능한 부반응과 물질수지를 계산하기 위한 기초자료를 정리하는데 목적을 두었다. 또한 ANAMMOX 반응의 중간생성물인 hydroxylamine과

hydrazine이 반응에 미치는 영향에 대하여 관찰하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험장치

실험은 실험병을 이용한 회분식 반응실험과 기존 ANAMMOX 반응조를 이용한 연속식 반응 실험으로 분리하여 실시하였다. 회분식 실험은 ANAMMOX 활성과 메카니즘 규명을 위해 ANAMMOX 슬러지를 접종하여 실시하였으며, 500 mL 실험병에 아질산성 질소용액과 돈사폐수 기질로 사용하였다. ANAMMOX 슬러지는 앞선 연구에서 아질산성질소 표준액과 돈사폐수 혼합물을 기질로하여 ANAMMOX를 유도하였던 기존 반응조에서 채취하여 사용하였다.

연속식 반응실험은 앞선 연구<sup>1)</sup>에서 130일 동안 ANAMMOX 반응이 유도된 반응조에 기질만을 변경하여 운전하였다. 앞선 연구에서는 돈사폐수에 각각 3,600 mg/L 및 5,000 mg/L의 NO<sub>2</sub>-N 표준용액을 1:1로 혼합한 기질을 이용하여 ANAMMOX 반응조를 운전하였다. 유입기질은 운전기간에 따라 NO<sub>2</sub>-N가 전혀 함유되지 않은 순수 돈사폐수와 돈사폐수 및 아질산성 질소용액과의 혼합기질을 구분하였다.

ANAMMOX 반응조로서 실험실 규모의 1 L 상향류 혐기성 슬러지상 반응기를 운전하였다. Phase 1과 2에서는 중온(35°C)에서 운전하였고, 저온에 의한 활성저하에 따른 특성을 관찰하기 위하여 phase 3에서는 운전온도를 20~30°C로 낮추었다. 반응조 후단에는 baffle이 있는 0.5 L 침전조를 설치하여 침전과 반송에 사용하였고, 기질은 SBR 형태의 fill-and-draw 형태로 주입하였다. 돈사폐수와 합성 아질산성 질소의 혼합기질을 사용시는 각각 부피비 1:1로 하여 6시간 간격으로 1일 4회 주입하였으며, 연속적으로 포기하였다. 돈사폐수만을 기질로 주입할 경우에는 NO<sub>2</sub>-N 결핍에 따른 급격한 ANAMMOX 반응의 저하를 방지하기 위하여 수리학적 체류시간을 10일로 증가하였으며, 슬러지를 약 1Q의 비율로 반송만 하였고 폐기하지 않았다.

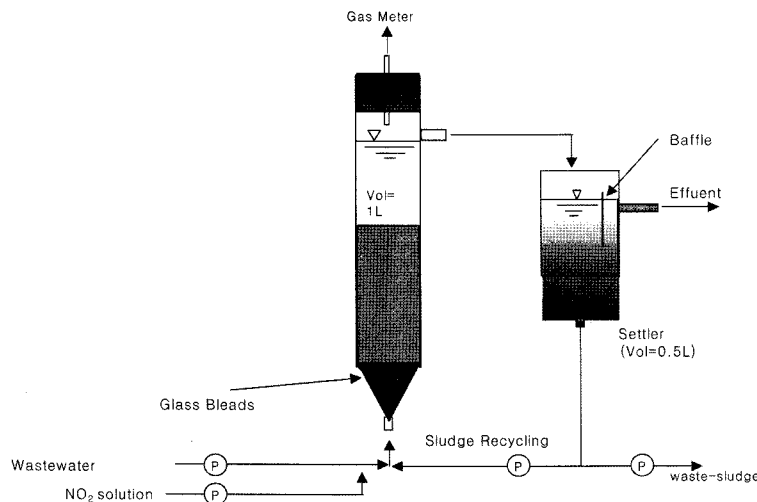


Fig. 1. A schematic diagram of ANAMMOX reactor.

**Table 1.** Operation condition of ANAMMOX reactor

	Period-1	Period-2	Period-3
Substrate	piggery waste + 5,000 mg/L NO <sub>2</sub> -N stock solution	only piggery waste	piggery waste + 2,500 mg/L NO <sub>2</sub> -N stock solution
HRT(days)	5	10	5
Sludge recycling	0.5Q	1Q	0.5Q

Note) Substrate mixing volume ratio : piggery waste/NO<sub>2</sub>-N stock solution = 1 : 1

앞선 연구에 연속하여 168일(약 40일간)까지는 돈사폐수와 5,000 mgNO<sub>2</sub>-N/L의 아질산성 질소용액의 혼합기질을 주입하였고, 200일째까지는 아질산성 질소용액을 혼합하지 않은 돈사폐수만을 주입하였다. 200일 이후에는 다시 2,500 mg NO<sub>2</sub>-N/L의 아질산성 질소용액을 주입하면서 ANAMMOX 반응을 유도하였다. 전 실험기간을 통하여 pH는 인위적으로 조절하지 않았다.

**2.2. 유입기질**

ANAMMOX 활성과 메카니즘 규명을 위해 돈사폐수와 아질산성 질소용액의 혼합액을 회분식 실험병에 주입하였다. ANAMMOX 슬러지를 접종한 초기 회분식 반응조의 구성은 NO<sub>2</sub>-N 2,070 mg/L, NO<sub>3</sub>-N 47 mg/L, SCOD 12,100 mg/L 였다.

ANAMMOX 반응을 위한 실험실 규모연구의 기질은 축산폐수공공처리장에 유입후 전처리과정(협잡물처리 + 원심분리)을 거친 농도도 질소(약 4.4~5.9 gTKN/L, 4.06~4.62

**Table 2.** Characteristics of influent

Parameters	Raw waste	Substrate*
pH	8.5 ~ 8.6(8.6±0.1)	8.5 ~ 8.6(8.6±0.1)
TCOD	47,500 ~ 61,000 (55,000±3,500)	26,700 ~ 33,400 (30,600±1,800)
SCOD	21,700 ~ 38,300 (30,500±4,000)	13,700 ~ 22,000 (18,100±2,000)
T-N	4,450 ~ 5,950(5,230±440)	4,730 ~ 5,480(5,110±220)
TKN	4,400 ~ 5,900(5,180±440)	2,220 ~ 2,950(2,590±220)
NH <sub>4</sub> -N	4,060 ~ 4,620(4,320±170)	2,030 ~ 2,310(2,160±80)
NO <sub>2</sub> -N	0	2,500
NO <sub>3</sub> -N	45 ~ 55(50)	20 ~ 30(25)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	400 ~ 440(420)	180 ~ 240(210)
T-P	1,120 ~ 1,520(1,260±110)	560 ~ 760(630±60)
S-P	387 ~ 856(629±145)	194 ~ 428(314±73)
TA(as CaCO <sub>3</sub> )	13,500 ~ 17,300 (1,5800±1,000)	6,750 ~ 8,650 (7,910±520)
BA(as CaCO <sub>3</sub> )	8,250 ~ 16,400 (12,400±1,900)	4,130 ~ 8,200 (6,180±960)
VA(as HAc)	138 ~ 515(337±102)	69 ~ 258(168±51)

Note) \*after adding nitrite stock solution  
Unit : mg/L, except pH

gNH<sub>4</sub>-N/L)를 함유한 돈사폐수와 아질산성 질소 용액을 1 : 1의 동일한 유입율로 혼합하여 주입하였다. 유입수의 pH는 8.5~8.6이었다. 돈사폐수와 유입 혼합물의 특성을 Table 2에 요약하였다.

**2.3. 실험방법**

분석은 Standard Methods6)에 준하여 측정하였다. pH, alkalinity(total-TA, bicarbonate-BA), volatile acids<sup>7)</sup>를 매일 측정하였다. Volatile fatty acids(VFAs)는 UV detector와 organic acid analysis column(Aminex HPX-87H, Bio-Tad, Inc., U.S.A.)으로 구성된 HPLC(Shimadzu Model LC-10AD, Japan)를 사용하였으며, 시료는 원심분리기를 사용하여 4,000 rpm으로 15분간 원심분리 후 0.45 µm 여과지로 여과하여 사용하였다. 가스성분 분석은 TCD 검출기와 silica gel 칼럼이 이장착된 가스크로마토그래프(Tremetrics model 9000, U.S.A.)를 이용하였다. 칼럼 온도는 60°C, 주입부 온도 85°C, 검출기 온도는 75°C였다. 이동가스는 헬륨을 사용하였고, 22 mL/min 속도로 이동되었다.

Hydroxylamine(NH<sub>2</sub>OH)과 hydrazine(N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)은 시료를 원심분리 후 0.45 µm 여과지로 여과한 것을 Spectrophotometric method<sup>8,9)</sup>를 사용하여 측정하였다. Hydroxylamine은 시료에 0.05 M 인산완충용액(pH 6.8)을 첨가 후, 에탄올(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)과 탄산나트륨(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 존재하에서 과량의 8-quinolinol(C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO)과 정량적으로 결합시켜 형성된 Indooxine을 705 µm 파장에서 측정하여 정량하였다. Hydrazine은 시료에 에탄올과 진한 염산용액을 혼합하여 조제한 p-dimethylaminobenzaldehyde [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CHO] 발색시약을 첨가하여 파장 458 µm에서 측정하였다.

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 회분식 ANAMMOX 활성실험**

ANAMMOX를 유도한 반응조에서 슬러지를 채취하여 식종 후 회분식 활성실험을 실시하였다. 실험결과, ANAMMOX 반응은 실험개시 1.5일 이내에 거의 이루어 졌으며(Fig. 2), ANAMMOX 외에도 복합적인 반응이 일어났을 가능성을 보여 주었다. 이때, 최대 비질소 제거율(specific nitrogen removal rate)은 0.1 gNH<sub>4</sub>-N/gVSS-day(0.77 gT-N/gVSS-day)였으며, 최대 아질산성 질소제거율은 0.67 gNO<sub>2</sub>-N/gVSS-day로서 NH<sub>4</sub>-N 제거율보다 매우 높았다. 포집가스를 분석한 결과, 암모니아는 발견되지 않았으며, 98% 이상의 질소가스와 약 2%의 이산화탄소가 검출되었다. 회분식 실험에서 제거된 NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N 비는 6.7로서 ANAMMOX의 이론적인 값인 1.3과는 상당한 차이를 보이고 있다. 이것은 기질에 존재하는 풍부한 유기물로 인하여 ANAMMOX에 관여하지 않은 NO<sub>2</sub>-N가 탈질되었기 때문이다. 따라서 NO<sub>2</sub>-N와 ANAMMOX에 의해 발생하는 이론적인 NO<sub>3</sub>-N에 의해 유기물이 감소되었다고 가정하여 환산할 때, 탈질된 NO<sub>2</sub>-N을 배제한 초기 NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N 반응비율은 1.6으로 나타났다.

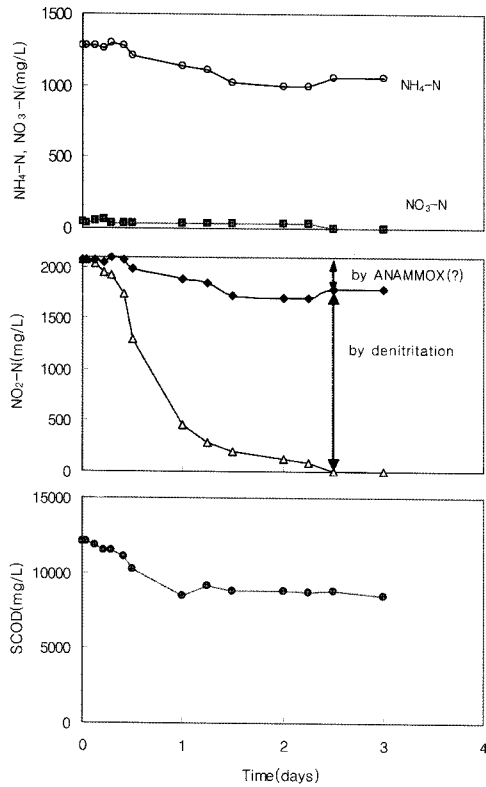


Fig. 2. Microbial activity test.

본 회분식 실험에서 부분탈질에 의한 COD 소모량은 NO<sub>2</sub>-N 1 kg당 4.97 kgCOD였다. 일반적인 메탄올을 이용한 탈질에서는 각각 1 kg의 NO<sub>2</sub>-N과 NO<sub>3</sub>-N이 탈질할 때 각각 약 2.3 kg과 3.57 kg의 COD가 소모되는 것으로 알려져 있으나,<sup>10)</sup> Table 3과 같이 실제 폐수에서는 다양한 값을 나타내고 있다.<sup>11-14)</sup>

Fig. 3은 미생물에 의한 발효의 주요 생성물을 나타낸 것이다. 발효과정은 Embden-Meyerhof pathway를 이용하는데, 이는 포도당을 피루브산으로 전환하는 광범위한 발효과정 중의 하나이며, 많은 세균들은 젖산과 에탄올보다는 다른 발효 최종산물을 생산한다. 발효에 관여하는 미생물들은 피루브산 대사에 대하여 차이를 보이며, 발효의 최종산물과 경로는

Table 3. Carbon sources in various wastewater

Carbon sources	kgCOD <sub>consumed</sub> / kgNO <sub>x</sub> -N <sub>removed</sub>	Remark	Reference
Wine sludge concentratate	7.3	NO <sub>3</sub> -N	11
Brewery spent grain extract	5.48	NO <sub>3</sub> -N	11
Starch processing effluent	3.26	NO <sub>3</sub> -N	11
Spent slufides liquor	3.94	NO <sub>3</sub> -N	11
Whey	9.65	NO <sub>3</sub> -N	12
Lactic acid	2.8	NO <sub>2</sub> -N	13
Piggery wastewater	8.44	NO <sub>3</sub> -N	14
Piggery wastewater	6.42	NO <sub>x</sub> -N (NO <sub>2</sub> -N+NO <sub>3</sub> -N)	14
This batch test	4.97	NO <sub>2</sub> -N	

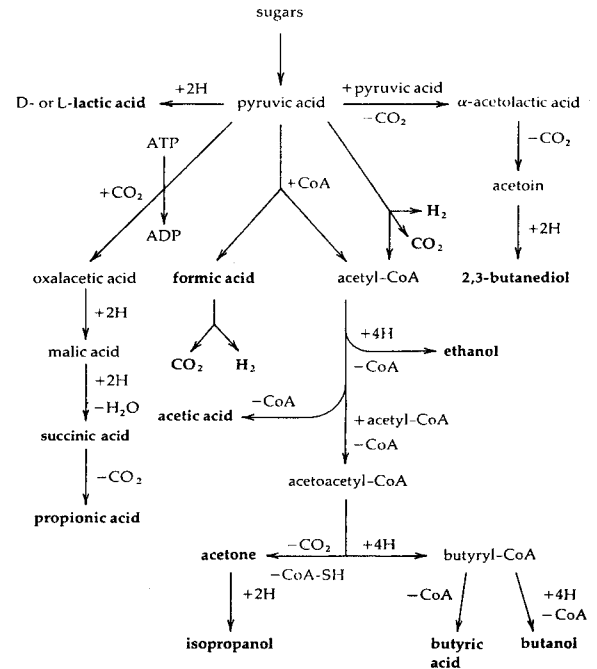
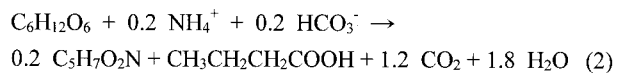


Fig. 3. Derivations of some major end products of the bacterial fermentations of sugars from pyruvic acid.<sup>15)</sup> (The end products are shown in boldface type)

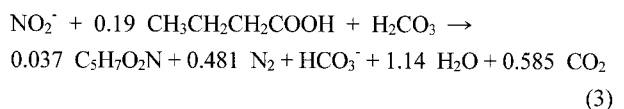
미생물 집단 특이성을 가진다. Fig. 3을 토대로 예상 가능한 부틸산의 발효반응은 식 (2)와 같이 표현할 수 있으며, 에탄올 발효반응과 유사하다.<sup>16)</sup> 산발효에 있어서 COD 소모는 세포합성에 기인하며, 제거된 NH<sub>4</sub>-N g당 11.4 gCOD가 제거된다. 최초 ANAMMOX 유도 시에 접종슬러지로 사용한 혐기성 주정폐수처리 슬러지에는 *Clostridium spp.*가 우점하였는데, 이 세균들은 편성 혐기성 미생물로서 당과 단백질을 분해하여 발효공정을 주도하며, 반응산물로서 산을 생성하는 능력을 가지고 있다. 이러한 산발효에서는 NH<sub>4</sub>-N을 제거하면서 COD를 소모하게 된다.

Table 4는 ANAMMOX 반응조 초기 식중슬러지와 유입기질의 혼합물에서 미생물을 DNA 추출과 PCR 증폭에 의한 분자염기서열 기법으로 분석한 결과이다.

부틸산을 탄소원으로 하는 부분탈질을 포함한 탈질과 극히 소량의 황의 환원반응이 일어났다고 가정하면, 산발효반응은 다음과 같이 추정할 수 있다.



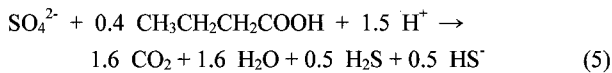
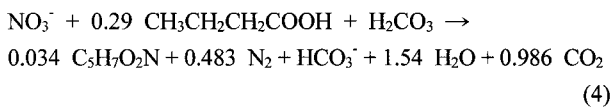
또한 부틸산의 발효가 일어났다고 가정할 때, 부틸산을 기질로 한 환원반응에서 일어나는 COD 소비 및 질소가스 생성식은 다음과 같다.



**Table 4.** Phyla from the dominant bacteria represented in the ANAMMOX clone libraries determined by BLAST comparisons of partial clone insert sequences

Clones	16S rRNA gene sequencing			Subclass of proteobacteria
	Closest match (Accession NO.)	No. of nucleotide compared	% Similarity with Closest match	
PA(13) <sup>a</sup>	<i>Clostridium disporicum</i> (Y18176)	474	92	Cl <sup>b</sup>
PB(11)	<i>Tissierella praeacuta</i> (X80833)	589	93	Cl
PC(10)	<i>Fusibacter paucivorans</i> (AF050099)	719	87	Cl
PD(9)	<i>Clostridium glycolicum</i> (AJ291746)	809	97	Cl
PE(3)	<i>Clostridium hastiforme</i> (X80841)	794	73	Cl
PF(9)	<i>Clostridium tertium</i> (Y18174)	827	94	Cl
PG(4)	uncultured bacterium (AF371835)	800	95	Cl
PH(6)	<i>Clostridium sp</i> (X75909)	445	91	Cl
PI(6)	uncultured bacterium (AF371689)	862	95	Cl
PJ(5)	uncultured bacterium (AF371837)	775	94	Cl

<sup>a</sup> The parenthesis is the number of colonies involved in same group  
<sup>b</sup> Clostridium group



기질이 부틸산이라고 가정할 때, 이론적으로 가능한 화학양론식의 물질수지를 세우기 위하여 반응에 관여하는 요소들은 Table 5와 같다. ANAMMOX 반응의 경우, 제거되는 NH<sub>4</sub>-N g당 0.114 g의 세포가 생성되며, 질소로 환산하면 0.01 g에 해당한다. 또한 NH<sub>4</sub>-N 1 g이 제거될 때, 2.04 g(1.632 L)의 질소가스와 0.26 g의 NO<sub>3</sub>-N이 생성된다. COD 제거는 관여하지 않는다.

**3.2. ANAMMOX 반응과 COD 제거**

ANAMMOX 반응은 독립영양공정이므로 유기성 COD 제

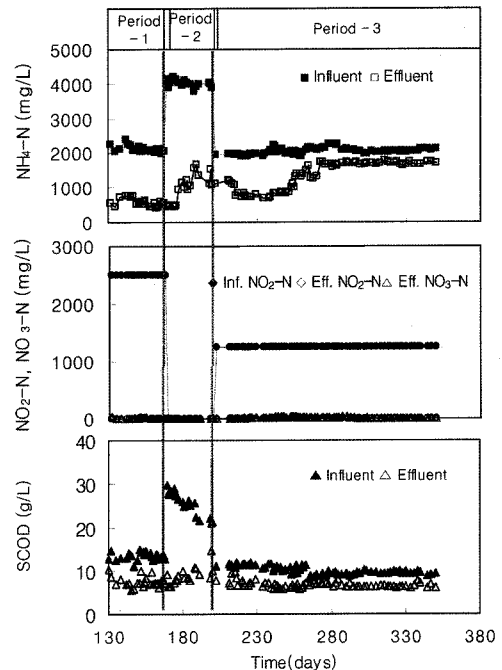
**Table 5.** Reaction summary using HBu

Reaction	Biomass production		Gas production @STP (gGas/gNH <sub>4</sub> -N)	by-product production (g/gNH <sub>4</sub> -N)	COD removal neglecting cell yield(g/gNH <sub>4</sub> -N)
	gCell/gNH <sub>4</sub> -N	gN/gNH <sub>4</sub> -N			
ANAMMOX	0.114	0.01	2.04 gN <sub>2</sub> 1.632 L N <sub>2</sub>	0.26 gNO <sub>3</sub> -N	-
HBu fermentation	8.071	1	18.857 gCO <sub>2</sub> 9.6L CO <sub>2</sub>	31.468 gHBu	11.429
NO <sub>2</sub> -N → N <sub>2</sub> partial-denitritation	0.2989 gCell/gNO <sub>2</sub> -N	0.037 gN/gNO <sub>2</sub> -N	0.963 gN <sub>2</sub> 0.7704 L N <sub>2</sub>		2.20 g/gNO <sub>2</sub> -N
NO <sub>3</sub> -N → N <sub>2</sub> denitrification	0.2783 gCell/gNO <sub>3</sub> -N	0.0345 gN/gNO <sub>3</sub> -N	0.9655 gN <sub>2</sub> /gNO <sub>3</sub> -N 0.373 L/gNO <sub>3</sub> -N		3.31 g/gNO <sub>3</sub> -N
Sulfate-reduction	-	-	0.733 gCO <sub>2</sub> 0.373 L CO <sub>2</sub>		0.67 g/gSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>

거는 반응조에 공존하는 종속영양미생물 즉, 아질산성 질소/질산성 질소 탈질미생물, 산생성미생물 그리고 황 환원미생물과 같은 종속영양 미생물에 의해 일어날 수 있다.

**3.2.1. 유기물의 산발효**

Fig. 4에서 보는 바와 같이 Period 1과 3의 COD 제거는 대부분 ANAMMOX에 관여하지 않은 NO<sub>2</sub>-N 및 반응부산물인 NO<sub>3</sub>-N의 탈질로 인하여 일어난 것이다. 그러나 원수만을 기질로 사용한 Period 2에서도 Period 1과 2보다 훨씬 많은 양의 COD가 제거되었으며, 방류수에서 유입수보다 더 높은 농도의 butyric acid가 발견되었다. 따라서 Period 2에서는 산발효에 의해 NH<sub>4</sub>-N가 제거되었음을 알 수 있다. 식 (2)와 같이, 제거된 NH<sub>4</sub>-N은 모두 세포로 합성된다. Period 1과 3의 평균 유입 SCOD는 각각 13,300 및 9,530 mg/L이었으나 유출수는 각각 7,450 및 6,510 mg/L였다. 반면에 돈



**Fig. 4.** Removal of nitrogen and SCOD.

사폐수만을 기질로 사용한 Period 2의 경우 유입수와 유출수의 SCOD는 각각 21,700 및 10,500 mg/L였다. Period 1과 3의 평균 유입 NH<sub>4</sub>-N가 각각 2,100 및 2,060 mg/L일 때, 유출수는 각각 566 및 1,700 mg/L였다. 반면에 Period 2의 경우 유입수와 유출수의 NH<sub>4</sub>-N는 각각 3,970 및 1,350 mg/L으로서 시간이 지남에 따라 유출수의 NH<sub>4</sub>-N가 증가하는 경향을 보였다.

식 (2)와 같이 산발효 공정에는 중탄산알칼리도가 사용되며 산생성에 의해 pH가 낮아진다. 그러나 본 실험에서는 유입수의 pH가 8.5~8.6이었으나, 반응조 pH는 8.5~9로 높게 유지되었다. 이는 탈질에 의한 높은 알칼리도 회복에 의한 것으로 판단된다. 유입수의 중탄산알칼리도는 약 6,180 mg/L (as CaCO<sub>3</sub>)였으며, 유출수의 중탄산알칼리도는 phase 1과 3의 경우 각각 15,100 mg/L 및 11,900 mg/L이었다.

ANAMMOX 반응조를 운전한 결과, 유입기질의 용해성 유기물에는 용해성 COD를 기준으로 아세트산 54.9%, 프로피온산 5.8%와 부틸산 4.7%로 구성되어 있었으며, 에탄올은 검출되지 않았다. 반면에 유출수에는 아세트산 6.3%, 미량의 프로피온산과 부틸산 45%로 구성되었다. 이러한 결과는 ANAMMOX 반응조에서 부틸산 발효가 주가 된 산발효반응이 일어났음을 나타낸다.

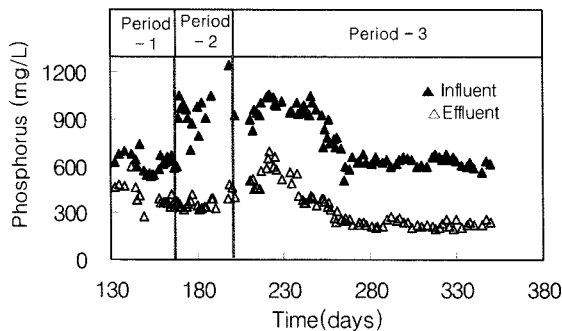
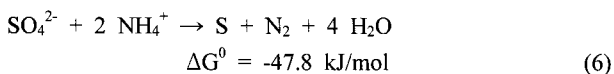


Fig. 5. Phosphorus removal in ANAMMOX reactor.

### 3.2.2. 암모니아와 황화합물(sulphate)의 산화-환원반응

혐기성 공정에 있어서 황화합물(sulphate)과 TKN 화합물을 포함하는 가장 일반적이고 열역학적으로 유리한 메카니즘은 S<sup>2-</sup>와 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>의 형성이다. 그러나 Fernando 등<sup>17)</sup>은 시스템상에서는 TKN/ammonia의 산화와 중요한 S<sup>0</sup>를 형성하는 황화합물(sulphate)의 동시적인 환원으로부터 야기된 중요한 분자 질소의 생산은 TKN/ammonia와 sulphate가 관여된 새로운 분해과정이라고 하였다. 따라서 식 (6)과 같은 새로운 산화-환원식을 제안할 수 있다.



본 반응조의 미생물 분석결과에서 Fusibacter paucivorans가 발견되었는데, 이 미생물은 혐기적인 조건에서 황을 환원하는 박테리아(thiosulfate-reducing bacteria)이다. 본 연구에

서도 황산염의 환원이 발견되었으며, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>농도는 유입수, 유출수 및 폐기슬러지에서 각각 210 mg/L, 80 mg/L 및 100 mg/L로서 제거된 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>는 0.024 g/d였다. 그러나 황산염의 환원은 식 (6) 뿐만 아니라, sulfide까지 환원이 일어날 수 있으므로 명확한 결론을 내리기는 어렵다. 식 (6)에 근거하여 sulfate 환원으로 가정했을 때, 제거 가능한 NH<sub>4</sub>-N는 0.007 g/d로서 본 반응에서 제거된 약 0.3 g NH<sub>4</sub>-N/d에 비하여 매우 낮다. 결국 반응조에서 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 환원에 의한 암모니아성 질소의 제거 가능성은 약 2% 정도로서 무시할 수 있다.

### 3.3. ANAMMOX 반응과 P 제거

본 연구에서는 Fig. 5에서 보는 바와 같이, 안정된 운전기간동안 P가 제거되었다. 이러한 ANAMMOX 반응조에서의 P제거는 ANAMMOX 반응과는 무관한 것으로서 ANAMMOX 미생물의 생리학적 특성<sup>18)</sup>과 ANAMMOX 과정에 대한 몇 가지 운전사례에서도 인 (P)의 제거를 수반하는 ANAMMOX 반응은 알려져 있지 않다.

Period-3의 경우, 유입수와 유출수의 P 농도는 265~324 mg/L(평균 304 mg/L) 및 210~240 mg/L(평균 235 mg/L)로서 약 23%의 제거효율을 보였다.

본 연구에서 반응조는 인 결정화 반응의 최적조건인 높은 pH와 중탄산 알칼리도를 가지고 있다. 혐기성 조건에서 인의 제거현상은 인 축적 탈질미생물(dPAO),<sup>19)</sup> hydroxyapatite[HAP, Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH]와 struvite(MAP, NH<sub>4</sub>MgPO<sub>4</sub>)와 같은 인 결정화반응<sup>20)</sup> 등에서 일어날 수 있다.

본 연구에서 기질로 사용한 양돈폐수의 성분분석결과 약 270 mg/L의 Ca<sup>2+</sup>와 8 mg/L의 Mg<sup>2+</sup>가 함유된 것으로 밝혀졌다. 이는 돈사폐수를 이용한 타 연구<sup>21,22)</sup>의 원수 분석 결과와 유사하였다. 반응조에 기질 원수와 아질산성 질소용액이 부피비 1:1로 유입될 때, 유입되는 기질은 약 135 mg/L의 Ca<sup>2+</sup>와 4 mg/L의 Mg<sup>2+</sup>가 함유한다. 따라서 식 (7)과 같이, hydroxyapatite는 Ca와 P가 질량구성비로 약 2.1:1을 나타내며, 기질의 구성면에서 생성가능성이 높아진다.

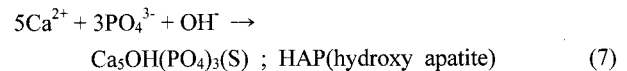


Fig. 6과 같이 본 연구에서 반응조내 인의 결정체가 관찰되었다. 제거된 20~25%의 P는 Ca<sup>2+</sup>가 인 결정화 반응에 소모되므로, Mg<sup>2+</sup>가 제한인자인 struvite(MAP, NH<sub>4</sub>MgPO<sub>4</sub>)가 아닌 hydroxyapatite 생성반응이 주요한 역할을 할 것으로 판단된다. 반응조에서 HAP 결정이 생성되는 것은 HAP 반응비율(5.4 gHAP/gP)에 따라 결정되며, struvite 결정과 같은 반응이 일어나기 어렵다. 따라서 struvite 생성에 의한 암모니아성 질소의 제거현상은 일어나지 않는다. 이 결과는 ANAMMOX 반응과 HAP 결정화 및 부분탈질을 포함한 반응이 복합적으로 일어날 수 있는 가능성을 보여준다. 그러나 본 연구자들은 안타깝게도 실험당시 인 결정물에 의한 성분분석은 하지 못했다.

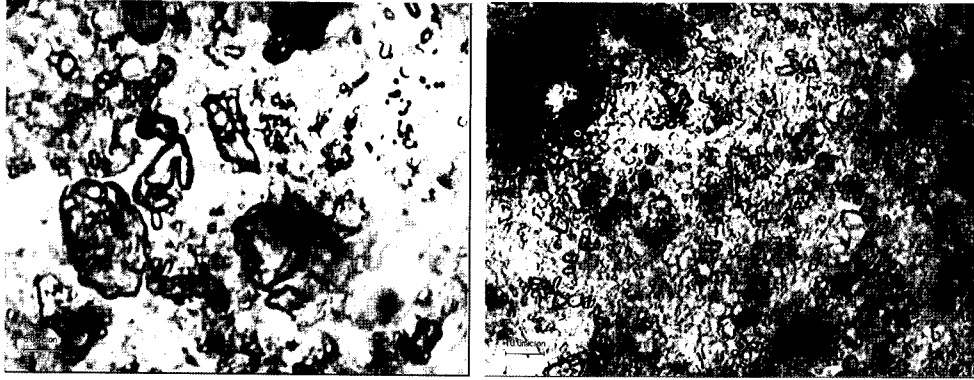


Fig. 6. P crystals in sludge of ANAMMOX reactor.

Fig. 6은 ANAMMOX 반응조에서 관찰된 결정체의 사진이다.

### 3.4. Hydroxylamine과 hydrazine

Fig. 8에 ANAMMOX의 중간산물인 hydroxylamine과 hydrazine의 특성을 나타내었다. Strous 등<sup>18)</sup>은 활성화되지 않은 ANAMMOX 반응조에서 반응의 중간생성물인 hydroxylamine과 hydrazine의 미량첨가가 반응을 활성화 시킬 수 있다고 보고하였는데, 최소량은 각각 0.7 mg NH<sub>2</sub>OH-N/L (1.6 mg NH<sub>2</sub>OH/L) 및 1.4 mg N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-N/L (1.6 mg N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/L)라고 보고하였다.

본 연구에서 사용한 돈사폐수는 저장조에서 혼합을 위한 소규모 포기조로 인하여 다음과 같이 hydroxylamine이 생성된 것으로 판단된다.<sup>23)</sup>

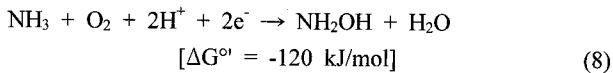


Fig. 7과 같이 유입기질로 사용한 돈사폐수 원수에는 약 1.5 mg/L의 NH<sub>2</sub>OH와 2.7 mg/L의 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>가 함유된 것으로 나타났다. 반응이 안정상태로 될수록 hydroxylamine과 hydrazine의 유출수 농도는 일정한 값을 보였다.

높은 ANAMMOX 활성을 보이는 Period-1의 경우, 유입수와 유출수의 평균 NH<sub>2</sub>OH 농도가 각각 0.6 및 0.9 mg/L였으며, N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>의 농도는 각각 1.5 및 3.1 mg/L였다. 반면에 NO<sub>2</sub>-N가 포함되지 않은 Period-2에서는 유입수와 유출수의 평균 NH<sub>2</sub>OH 농도는 모두 1.5 mg/L로서 변화가 없었으며, N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 농도는 각각 2.7 및 3.1 mg/L로서 조금 증가하였다. 60% 이상의 NH<sub>4</sub>-N의 제거가 관찰되는 초기 Period-3에서는 유입수와 유출수의 평균 NH<sub>2</sub>OH 농도는 각각 0.8 및 1.4 mg/L였으며, 평균 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 농도는 각각 1.3 및 2.5 mg/L로서 크게 증가하였다. 그러나 운전온도 저하에 따른 ANAMMOX 활성저하로 인하여 NH<sub>4</sub>-N이 15% 이하만 제거된 Period-3의 후반부에서는 유입수와 유출수의 평균 NH<sub>2</sub>OH 농도가 약 0.8 mg/L 전후로서 큰 차이를 보이지 않았으며, 평균 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 농도도 각각 1.3 및 1.5 mg/L였다. 결과적으로 ANAMMOX 활성이 높은, 즉 NH<sub>4</sub>-N의 제거율이 높은 Period-3의 전반부가 제

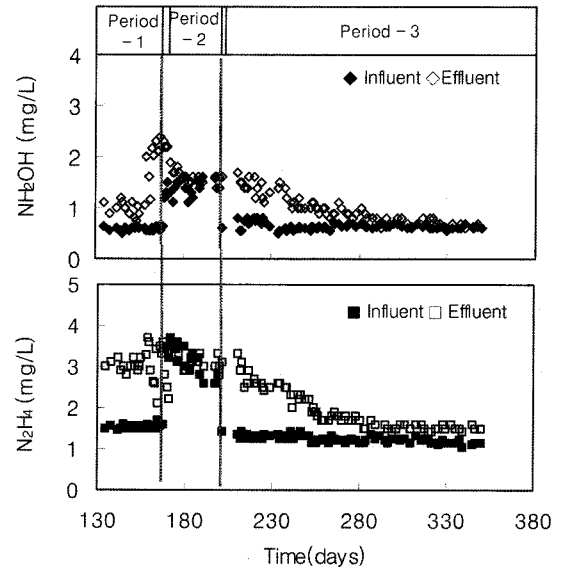


Fig. 7. Hydroxylamine and hydrazine.

거울이 낮은 후반부보다 반응조 내의 NH<sub>2</sub>OH와 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>의 농도가 높았으며, ANAMMOX 활성화와 관련하여 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>보다 NH<sub>2</sub>OH의 변화가 더 뚜렷하였다. 따라서 NH<sub>2</sub>OH와 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>가 NH<sub>4</sub>-N 제거에 중요한 역할을 하는 중간생성물임을 알 수 있다.

## 4. 결론

돈사폐수와 아질산성 질소용액 혼합액을 기질로 하여 ANAMMOX 반응을 유도한 결과, 고농도 질소와 유기물 및 인과 황이 포함된 기질특성으로 인하여 ANAMMOX 반응 이외에도 다양한 복합반응들이 일어날 수 있는 가능성을 보였다. NH<sub>4</sub>-N 제거는 ANAMMOX 반응 뿐만 아니라 산발효에 의해서도 가능하였고, ANAMMOX 반응조에서는 유기물의 산발효, 종속영양세균에 의한 아질산성 질소 및 ANAMMOX 부산물인 질산성 질소의 탈질반응에 의하여 유기물이 제거되었다. 또한 명확한 최종산물이 정의되지는 않았지만 황 화합물의 환원, 인의 결정화 반응 등이 복합적으로 일어날 가능성이 관찰되었다. 따라서 ANAMMOX 반응의 물질수지를 세우기 위해서는 복합반응에 대한 검토가 필수적인 것으로

사료된다. 유입기질로 사용한 돈사폐수 원수에는 약 1.5 mg/L의  $\text{NH}_2\text{OH}$ 와 2.7 mg/L의  $\text{N}_2\text{H}_4$ 가 함유된 것으로 나타났으며, ANAMMOX 활성이 높을수록 반응조의  $\text{NH}_2\text{OH}$ 와  $\text{N}_2\text{H}_4$ 의 농도는 상대적으로 높게 나타났다. 연구결과,  $\text{NH}_2\text{OH}$ 와  $\text{N}_2\text{H}_4$ 가 ANAMMOX 반응의 중간생성물로서 중요한 역할을 수행하고 있음을 확인 할 수 있었다.

## 참고문헌

- 황인수, 안영호, 민경석, “혐기성 슬러지상 반응조를 이용한 돈사폐수의 암모늄 제거,” *대한토목학회지*, **22**(4B), 615~621(2001).
- Strous, M., Heijnen, J. J., Kuenen, J. G., and Jetten, M. S. M., “The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 589~596(1998).
- Dong, X. and Tollner, E. W., “Evaluation of Anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure,” *Bioresour. Technol.*, **86**, 139~145(2003).
- van de Graaf, A. A., de Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S. M., and Kuenen, J. G., “Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of  $^{15}\text{N}$  studies in a fluidized bed reactor,” *Microbiol.-UK*, **143**, pp. 2415~2421(1997).
- Jetten, M. S. M., Strous, M., van de Pas-Schoonen, K. T., Schalk, J., van Dongen, U. G. J. M., van de Graaf, A. A., Logemann, S., Muyzer, G., van Loosdrecht, M. C. M., and Kuenen, J. G., “The anaerobic oxidation of ammonium,” *FEMS Microbiol. Rev.*, **22**(5), pp. 421~437(1998).
- APHA, WEF and ASCE, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Eds., Washington, D.C., USA(1998).
- Buchauer, K., “A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to wastewater and sludge treatment processes,” *Water SA*, **24**(1), 49~56(1998).
- Frear, D. S. and Burrell, R. C., “Spectrophotometric method for determining hydroxylamine reductase activity in higher plants,” *Anal. Chem.*, **27**(10), pp. 1664~1665(1955).
- Watt, G. W. and Chrisp, J. D., “A spectrophotometric method for the determination of hydrazine,” *Anal. Chem.*, **24**(12), pp. 2006~2008(1952).
- US. EPA, Manual nitrogen control, EPA 625/R-93/010, Cincinnati, Ohio(1993).
- Bridle, T., “Discussion of industrial wastes as carbon sources in biological denitrification,” *Water Environ. Res.*, pp. 1613(1982).
- Henze, M., Harrenmoes, P., Cour Jansen, J., and Arvin, D., *Wastewater Treatment: Biological and chemical processes*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg(1995).
- Akunna, J. C., Bizeau, C., and Moletta, R., “Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using carbon sources: Glucose, Glycerol, Acetic acid, Lactic and Methanol,” *Water Res.*, **27**(8), 1303~1312(1993).
- 배우근, 고광범, 이용우, 이창호, “단축질소제거공정을 이용한 양돈폐수의 처리,” *Proc. of Livestock Wastewater Symposium*, Korea Univ., Seoul, Korea(2001).
- Stanier, R. Y., Ingraham, J. L., Wheelis, M. L., and Painter, P. R., *The Microbial World*, 5th Ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey(1986).
- Rittmann, B. E. and McCarty, P. L., *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, McGraw-Hill, New York(2001).
- Fernando, F. P., Maria, F. P., Neivy, F., Miguel, A. U., Pedro, A. G., and Santiago, V., “New process for simultaneous removal of nitrogen and sulphur under anaerobic conditions,” *Water Res.*, **35**(4), 1111~1114(2001).
- Strous, M., Kuenen, J. G., and Jetten, M. S. M., “Key physiology of anaerobic ammonia oxidation,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**(7), 3248~3250(1999).
- Kuba, T., Smolders, G. J. F., van Loosdrecht, M. C. M., and Heijnen, J. J., “Biological phosphorus removal from wastewater by anaerobic anoxic sequencing batch reactor,” *Water Sci. Technol.*, **27**(5~6), 241~252(1993).
- Loewenthal, R. E., Kormmuller, U. R. C., and van Heerden, E. P., “Modeling struvite precipitation in anaerobic treatment systems,” *Water Sci. Technol.*, **30**(12), 107~116(1994).
- 이국희, 이희찬, 김연옥, 김종수, “축산폐수의 효율적인 처리를 위한 혐기성소화 생물반응기의 성능비교 연구,” *대한환경공학회 추계학술연구발표회 논문집*, 무주리조트, pp. 706~709(1997).
- 김종수, 이국희, 사동민, “양돈폐수 처리를 위한 혐기성 생물반응기의 성능 비교,” *대한환경공학회지*, **22**(11), 2047~2058(2000).
- Hyman, M. R. and Arp, D. J., “An electrophoretic study for the thermal-dependent and reductant-dependent aggregation of the 28KDa component of ammonia monooxygenase from *Nitrosomonas europaea*,” **14**, 619~627(1993).