

광합성 세균을 포함한 고정화 복합미생물에 의한 질소성분 제거

조경숙¹ · 김정보¹ · 정수경¹ · 정해윤² · 조정섭² · 김종균^{1*}

¹부경대학교 식품생명공학부

²두산 에코비즈넷

Removal of Nitrogenous Compounds by Immobilized Mixed Microorganisms Including Photosynthetic Bacteria. Kyoung Sook Cho¹, Jeong Bo Kim¹, Soo Kyoung Jeong¹, Hae Yoon Jeong², Jeong Sub Cho² and Joong Kyun Kim^{1*}. ¹*Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea,* ²*Doosan Ecobiznet, Yongin, Gyeonggi-do 449-795, Korea*

Abstract For efficient removal of nitrogenous compounds produced in recirculating aquaculture system, the N removal characteristics of immobilized mixed microorganisms were investigated at various mixing ratios of photosynthetic bacteria (PSB) immobilized in PVA beads or CTA cubes and ammonium utilizing bacteria (AUB) immobilized in PVA beads. On the optimal medium of AUB, the maximum gas production rate was obtained at the mixing ratio of 10:40 (PSB:AUB), and the gas production rate increased as the portion of AUB beads in the mixed beads increased. When the mixing ratios of PSB:AUB beads were 50:0, 40:10, 25:25 and 10:40, the final pHs were measured to be 6.29, 6.01, 5.69 and 5.13, respectively. On the optimal medium of PSB, however, the volume and the rate of gas production decreased remarkably as the portion of AUB beads in the mixed beads increased. The final pH was measured to be approximately 6.5, regardless of the mixing ratio. In the reactions by the mixed culture of PSB cubes and AUB beads, all results showed the same tendency of those by the mixed culture of PSB and AUB beads, but the volume and the rate of gas production decreased remarkably, even with 0.2ml of gas production in control. From all the results, the use of mixed PSB and AUB beads at the ratio of 10:40 seems to be efficient to remove nitrogenous compounds in wastewater from recirculating aquaculture system.

Key words : Biological wastewater treatment, cell immobilization, photosynthetic bacteria, removal of nitrogenous compounds

서 론

어류의 소비가 날로 늘어가고 있는 오늘날, 어류를 고밀도로 사육하는 순환여과식 양식은 어류 생산력을 증대시킬 수 있을 뿐만 아니라, 수질오염 문제로 인하여 야기되는 양식장에서의 각종 규제를 해결할 수 있는 장점을 지니고 있는 사육시스템이다. 순환여과식 양식시스템에서 어류의 대사작용에 의해 생성되는 노폐물이나 미섭취 되고 남은 사료로부터 생성되는 암모니아, 아질산염 및 질산염은 어류에게

독성을 미치는데, 암모니아의 경우 신장 기능 부전의 원인이 되는 삼투압 조절 기능의 불균형과 질식, 내인성 암모니아 배설량의 감소 및 아가미 상피를 손실시키는 것으로 보고 되었고[17], 아질산염의 경우는 미성어[1], 방어 치어[18] 및 연어과 어류[23,27] 등의 어류에서 그 독성이 보고되었다. 이에 비하여 양식장 미생물에 의한 질산화를 통해 축적되는 질산염은 그 자체가 어류에게 직접적으로 해가 되지 않는다고 여겨져, 질산염 제거를 위한 연구에 많은 관심이 기울이지 않고 있다[3,14,29]. 그러나 축적된 고

* Corresponding author

Phone: +82-51-620-6186, Fax: +82-51-620-6180

E-mail: junekim@pknu.ac.kr

농도의 질산염은 발암물질로서 알려진 nitrosoamine을 형성하고, 아질산염의 전구체로서 유해성을 가지고 있다[18]. 이러한 유해성 질산염 제거를 위해 사용되는 방법으로 이온교환법, 역삼투압법, 전기분해법, 화학적 환원법, 그리고 생물학적 탈질법 등이 있는데[9,11,24,25], 그 중에서도 탈질균을 이용하여 질산염을 유해성이 없는 N₂ 가스로 전환시키는 생물학적 처리법은 경제적 장점을 가진다[7,8].

미생물을 이용한 생물학적 폐수처리 시스템에 있어서 처리 효율을 높이기 위하여 고정화 공법을 많이 사용하고 있는데, 이러한 미생물 고정화 공법은 고농도의 미생물을 반응조 내에 유지시킬 수 있고, 폐수처리 시스템의 침전조에서 고액 분리를 용이하게 하며, pH, 온도, 그리고 부하량의 변화와 같은 다양한 환경적 변화에 적게 영향을 받는다는 장점을 가진다. 미생물 고정화 담체로 자주 사용되는 천연 고분자 물질은 k-carrageenan, alginate 등이 있고, 합성고분자의 경우는 polyethylene glycol, polyvinyl alcohol 또는 cellulose triacetate 등이 있다. 이중 polyvinyl alcohol (PVA)와 cellulose triacetate (CTA)는 가격이 저렴하고 장기간 사용에 대한 내구성이 크며 독성이 없다는 장점이 있어, 환경 폐수처리에 사용되고 있으며 그 내구성도 좋은 것으로 평가되고 있다[2,7,15,20].

일반적으로 폐수 중의 질소성분 처리에 사용되는 미생물로는 *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*[12], ammonia oxidizing bacteria와 nitrite oxidizing bacteria[5] 및 activated sludge[31] 등이 보고되고 있고, 해산물 가공시 발생하는 폐수를 처리하는 미생물로는 *Chromatium* sp.[22] 균이, 산생성 폐수의 처리에는 *Rhodobacter sphaeroides*[26] 균 및 잉어 사육 수조내 질산염 처리에는 *Rhodobacter sphaeroides* S균[19] 등이 보고되고 있으나, 아직 순환여과식 양식장 배출 폐수의 질소성분의 처리에 효율적인 미생물은 보고된 바가 없다. 폐수처리 미생물들 중 광합성세균(photosynthetic bacteria: PSB)은 다양한 종류의 유기물질을 분해 할 수 있고, 동시에 질소와 인 성분도 제거할 수 있는 장점이 있는 것으로 보고되어지고 있다[14,16].

본 연구에서는 순환여과식 시스템[16] 내의 질소 성분 처리에 의한 양식어 생산 향상을 위하여, 양식장 폐수의 질소성분 처리 미생물로서 가능성이 높은

광합성세균의 고정화를 통하여 그 처리특성을 실험하였다. 보다 효율적인 질소성분 (NH₄⁺, NO₂⁻ 및 NO₃⁻) 제거를 위하여 PVA 또는 CTA 담체에 고정화시킨 광합성세균 (PSB) beads 및 cubes를 NH₄⁺를 잘 이용하는 균(Ammonium Utilizing Bacteria; AUB)을 고정화한 beads와 여러 비율로 혼합한 복합 고정화균의 N 제거 특성을 알아보았다.

재료 및 방법

미생물 및 배지

본 연구에 사용된 광합성세균 *Rhodobacter capsulatus* (PSB)는 경기도의 광합성세균 판매 회사인 D-회사에서 얻어 실험에 사용하였고, NH₄⁺를 잘 이용하는 균 *Enterobacter asburiae* (AUB)는 질산화·탈질산화 반응이 활발히 일어나는 폐수처리장의 반응조로부터 순수 분리하여 사용하였다. 각각의 균주는 다음과 같은 최적배지 조성에서 배양되고 유지되었다 (Table 1).

Mineral solution 조성은 (1L 당): FeSO₄ · 7H₂O, 3g; H₃BO₃, 0.01g; Na₂MoO₄ · 2H₂O, 0.01g; MnSO₄ · H₂O, 0.02g; CuSO₄ · 5H₂O, 0.01g; ZnSO₄, 0.01g; 및 ethylenediamine tetraacetic acid, 0.5g 이었고, 배지의 초기 pH는 7.0으로 맞춰주었다.

세포 고정화

PSB 및 AUB 균의 고정화는 PVA를 담체로 하여 Chen et al. (1997)[6] 방법에 따라 bead 형태로 만들어 그 반응특성을 실험하였다. 먼저, 7,000rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 균을 모은 후 0.05M p-buffer에 풀어 균의 농도를 200mg/ml에 맞춘다. 이 균 용액을 17% PVA와 섞어 최종 PVA의 농도가 12%가 되도록 한다. 최종 혼합용액을 20cm 높이의 needle을 통해 아래에 교반되고 있는 포화 boric acid 용액속으로 적하시켜 0.5-0.7cm 구형의 beads를 만든 후 4시간 동안 방치시킨다. 그 후 beads를 0.5M p-buffer에서 1시간 담가두어 안정화시킨 후 멸균된 증류수로 세척하여 실험에 사용하였다.

담체 CTA (cellulose acetate)에 고정화시킨 PSB cubes는 Yang & See (1991)[30] 방법에 따라 제조되

었다. 먼저 dimethylene chloride 용액에 cellulose triacetate를 10% 넣고 100ml에 맞추어 혼합한다. 이때, 용액의 완전혼합을 위하여 고점도용 교반기(KIKA Labortechnik)를 사용하여 800rpm에서 5시간정도 혼합시킨다. 이 용액에 7,000rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 모은 균과 20ml의 증류수를 넣고 10분정도 가볍게 혼합시킨 뒤 혼합액을 가로*세로*높이가 10cm*10cm*1cm인 철제 사각형 틀에 붓고, toluene 용액이 들어있는 용기에서 하루정도 담가두어 딱딱하게 굳힌다. 굳힌 덩어리를 날카로운 칼로 1cm*1cm의 cube가 되도록 자른 후 멸균된 증류수로 세척하여 실험에 사용하였다.

고정화균의 N 제거능력

PSB PVA beads 또는 CTA에 고정화한 cubes와 AUB를 고정화한 beads를 여러 비율로 섞어서 N 제거능력을 각 미생물이 선호하는 배지에서 측정하였다. 50ml syringe를 사용하여 배지 25ml에 bead 50개 또는 이 bead 전체의 wet cell 양과 동일한 4개의 cubes를 넣어 30℃, 180rpm에서 실험하였다. 이때, beads 한 개당 들어가는 wet cell의 양은 11mg이었다. 미생물의 N제거 결과 발생하는 가스와 pH 등을 측정하여 배지속의 N성분이 얼마나 제거 되었는지 알아보았다.

분석방법

Syringe실험의 최종 pH는 pH meter (Humas Co., Ltd, Kore)로 측정하였고, syringe 내에서 반응에 의해 생성된 가스는 gas chromatography (Perkin Elmer Instruments, USA)로 분석하였다. 사용된 carrier gas는 He이었고, 이때 flow rate는 30ml/min로 하여 분석하였다. N₂ 가스 분석에 사용한 컬럼은 ‘molecular sieve 13X’ (stainless steel, mesh 80/100, 6ft 1/8in)이었고, injector, detector와 oven 온도는 각각 100℃, 200℃와 40℃이었다. CO₂ 가스 분석은 ‘carboxen 1000’ (stainless steel, mesh 60/80, 6ft 1/8in) 컬럼을 사용하여 분석하였고, injector와 detector 온도는 각각 100℃, 200℃이었다. 분석 중 oven 온도는 프로그램에 의해 처음 3분간은 40℃로 유지시켰다가 30℃/min 속도로 170℃까지 상승시켰다. 각 기체의 몰수 계산은 이상기체 법칙을 이용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

PSB beads와 AUB beads 혼합균에 의한 N 제거 특성

AUB 최적 배지(Table 1)에서의 혼합 고정화균에 의한 N제거 특성을 알아보기 위해 PSB beads 50개를 syringe에 넣고 실험한 반응을 control로 하여 AUB beads와의 혼합 비율에 따른 각각의 반응특성을 알아보았다. Fig. 1에 그 결과를 나타내었고, 이때의 두 균의 혼합비율에 따른 가스 생성율은 Fig. 2에 나타내었으며, syringe 내에 발생한 가스의 GC분석의 결과는 Table 2에 나타내었다. Fig. 1에서 보듯이, PSB:AUB beads의 비율이 10:40 일 때 syringe 내에 가장 많은 가스(14ml)가 생성되었고, PSB 균주만을 고정화한 control 반응의 lag time이 다른 AUB 균주가 섞인 혼합균의 반응에 비해 길다는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 광합성세균이 환경조건(빛의 양)에 따라 성장속도가 크게 달라지고[10], 기질의 종류에 따라 미생물의 적응시간이 달라진다[4]는 연구결

Table 1. The composition of the optimal medium for each culture (per L)

	PSB		AUB
Malic acid	1g	NH ₄ Cl	0.382g
Yeast extract	3g	KH ₂ PO ₄	0.066g
Casamino acid	2g	Yeast extract	1g
KNO ₃	2g	Glucose	2.670g
Mineral sol'n	1ml	Mineral sol'n	1ml

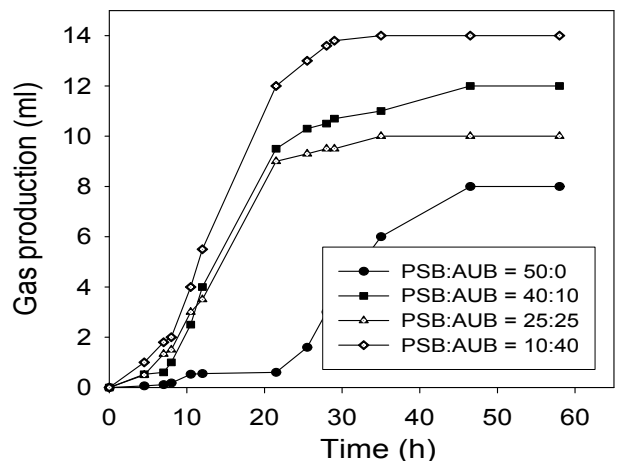


Fig. 1. Gas production at various mixing ratios of PSB and AUB beads. Reactions were carried out on the AUB optimal medium at pH 7 and 30℃.

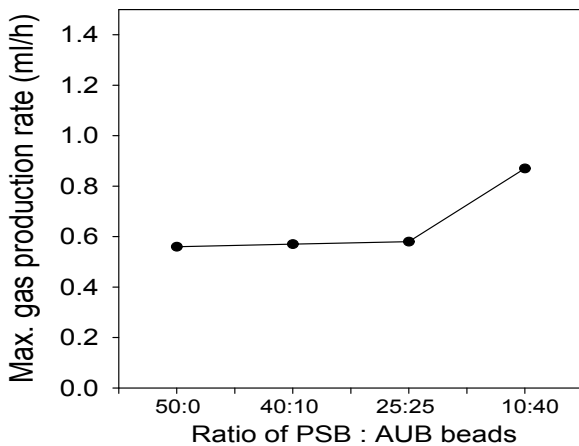


Fig. 2. Gas production rate at various mixing ratios of PSB and AUB beads.

과와 같이, PSB 균주가 원래 자기의 최적배지가 아닌 다른 배지의 환경조건 속에서 새로운 적응이 필요한 때문으로 보인다. 이때, 최대 가스 생성율은 PSB:AUB beads의 혼합비율이 10:40 일 때, 가장 높은 0.87ml/h를 나타내었다. Purple non-sulfur bacteria 중의 하나인 *Rhodospseudomonas palustris* 광합성세균의 최적 배지 및 최적 환경조건 하에서, free cell 상태의 *R. palustris*의 최대 N₂ 가스 생성율은 0.2ml/h로 보고된 바 있어[14], 광합성세균을 이용한 다른 연구와 비교해 볼 때, 본 연구의 결과는 광합성세균의 세포고정화와 NH₄⁺를 잘 이용하는 AUB beads와의 적절한 혼합에 의한 시너지 효과의 결과로 보인다. 또한, 전체 beads 중 AUB beads의 혼합비율이 높을수록 가스 생성율이 높아짐을 알 수 있는데, 이는 AUB 균주의 최적배지에서 반응을 시켰기 때문이다 (Fig. 2).

그러나, Table 2를 살펴보면, 반응 beads 중 AUB beads가 차지하는 비율이 높을수록 가스 생성량은 많았지만, 전체 가스속에 존재하는 실제 N₂ 가스의 성분 비율은 control(89.49%)에 비해 감소한다는 것을 알 수 있다. Table 2에서 ‘theoretical max gas

volume’에 나타난 값은 배지에 존재하는 N-source를 통해 이론적으로 발생 가능한 N₂양을 계산한 수치에서 GC 분석을 통해 확인한 N₂ %를 고려하여 얻어진 값인데, 실제 측정값과 이론값과의 차이가 많이 나는 이유는 N₂ 가스외에 다른 가스(주로 CO₂)의 생성이 증가했기 때문이다. Koku et al. (2000)[13]의 결과에서 보듯이, 광합성세균의 성장을 위하여 여러 가지의 기질이 사용될 수 있으나, TCA cycle의 활동도, 탄소 대 질소의 비, 기질의 환원상태 및 중간대사산물로의 전환능력 등의 요인들을 고려하여 효과적인 기질을 선택해야 하며, 다양한 기질은 다양한 신진대사과정을 보여줄 수 있음이 보고되었다. 따라서, 본 실험의 결과에서 보듯이 혼합균 상호간의 역학적인 관계는 환경조건에 따라 달라지며, 환경조건이 달라지면 신진대사 과정도 달라진다는 결과를 얻었다. PSB:AUB beads의 혼합 비율이 50:0, 40:10, 25:25, 10:40 일 때, 최종 pH값은 각각 6.29, 6.01, 5.69, 및 5.13으로 나타났다. AUB beads의 혼합비율이 높아질수록 더 낮은 pH값을 나타낸 것으로 보아 AUB 균주는 NH₄⁺를 이용하여 반응할 때 pH 값을 많이 떨어뜨리는 균주임을 알 수 있었다[21].

PSB 최적 배지(Table 1)를 사용한 혼합 고정화균에 의한 N 제거 특성을 알아보기 위하여 PSB beads 50개를 넣고 실험한 반응을 control로 하여 AUB beads와의 혼합 비율에 따른 반응특성을 알아보았는데, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었고, GC 분석이 가능한 control 반응의 syringe 내에 발생한 가스의 GC 분석의 결과는 Table 3에 나타내었다. Fig. 3을 보면 control 반응에 비해 AUB beads를 PSB beads와 혼합한 실험에서는 가스의 생성 반응이 현저하게 낮게 일어남을 알 수 있다. 이것은 NH₄⁺를 잘 이용하는 AUB균이 PSB가 선호하는 배지에서는 NH₄⁺성분이 없어 AUB에 의한 반응이 거의 일어나지 않은 것으로 생각된다. Table 3을 보면, control 반응에 비해

Table 2. Characteristics of N₂ produced by the mixed PSB and AUB beads on the AUB optimal medium

Ratio of mixed beads (PSB:AUB)	Max. volume of gas (ml)	Gas production rate (ml/h)	Theoretical max. gas volume (ml)	% N ₂ on GC	Peak area	μmoles of N ₂ , calculated
50:0	8	0.56	4.73	89.49	43643.3	52.26
40:10	12	0.57	5.01	84.45	23599.8	40.03
25:25	11	0.58	5.00	84.62	30912.3	43.58
10:40	14	0.87	5.08	83.26	23277.9	45.49

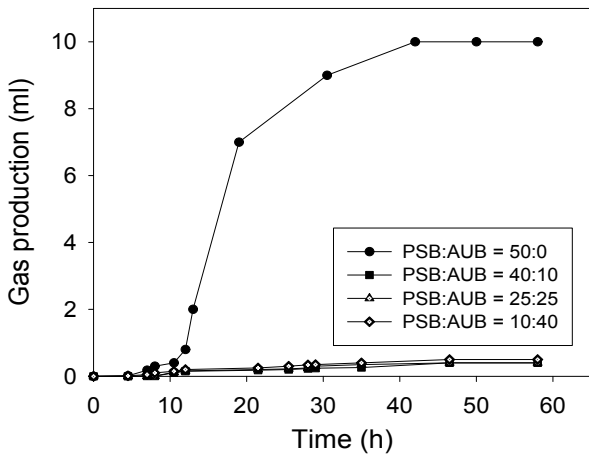


Fig. 3. Gas production at various mixing ratios of PSB and AUB beads. Reactions were carried out on the PSB optimal medium at pH 7 and 30°C.

AUB beads가 혼합된 실험에서의 반응결과는 최종 가스 발생량이 0.5ml 정도로 매우 적은 양이라서 GC 분석이 불가능하였다. Control 반응을 보면, 발생하는 가스가 99%이상의 높은 비율의 N₂를 포함하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, PSB의 N 제거시 신진대사 과정은 다른 가스를 거의 생성하지 않고 대부분을 N₂ 가스로 생성하는 대사과정을 한다는 것을 알 수 있었다[19]. PSB:AUB beads의 혼합 비율이 50:0, 40:10, 25:25 및 10:40 일 때, 최종 pH값은 각각 6.90, 6.64, 6.43, 및 6.43으로 나타나, 앞서의 AUB 최적 배지를 사용했던 실험에 비해 pH값을 많이 떨어뜨리는 AUB에 의한 NH₄⁺ 분해반응이 거의 없음을 알 수 있다.

PSB cubes와 AUB beads 혼합균에 의한 N 제거 특성

CTA에 고정화한 PSB cubes 와 AUB를 고정화한 beads를 여러 비율로 섞어서 각 미생물이 선호하는 배지에서 N 제거 특성을 알아보았다. 사용균주는 bead 고정화에 사용하였던 동일한 wet cell양에 해당하는 cubes를 접종하여 실험하였다. PSB cube 4개를 넣은 것을 control로 PSB cubes와 AUB beads의 혼합 비율을 3:10, 2:25 및 1:40으로 하여 실험하였다. 먼저 AUB 최적 배지에서의 결과는 Fig. 4에 나타내었고, 반응결과 생성된 가스의 성분을 GC로 분석한 결과는 Table 4에 나타내었다. AUB beads의 혼합비

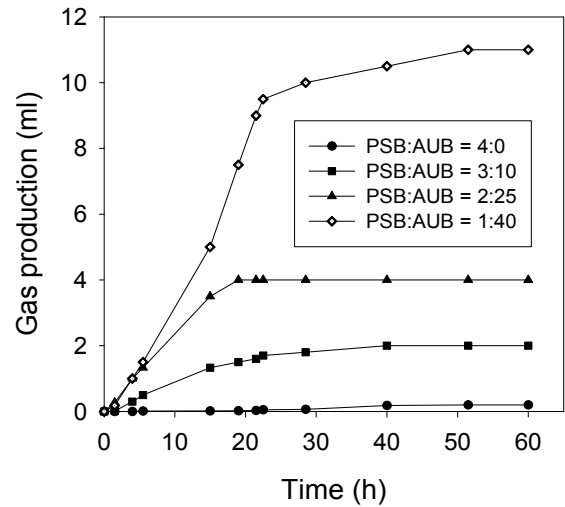


Fig. 4. Gas production at various mixing ratios of PSB cubes and AUB beads. Reactions were carried out on the AUB optimal medium at pH 7 and 30°C.

Table 3. Characteristics of N₂ produced by the mixed PSB and AUB beads on the PSB optimal medium

Ratio of mixed beads (PSB:AUB)	Max. volume of gas (ml)	Gas production rate (ml/h)	Theoretical max. gas volume (ml)	% N ₂ on GC	Peak area	μmoles of N ₂ , calculated
50:0	10	0.83	17.71	99.37	195573.2	323.946

Table 4. Characteristics of N₂ produced by the mixed PSB cubes and AUB beads on the AUB optimal medium

Mixing ratio of PSB:AUB	Max. volume of gas (ml)	Gas production rate (ml/h)	Theoretical max. gas volume (ml)	% N ₂ on GC	Peak area	μmoles of N ₂ , calculated
4:0	0.2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3:10	2	0.08	4.66	90.82	54569.1	16.526
2:25	4	0.20	5.08	83.25	29634.5	16.484
1:40	11	0.62	5.32	79.48	27660.7	40.218

n.a.: not applicable because GC analysis cannot be carried out due to small quantity of gas produced

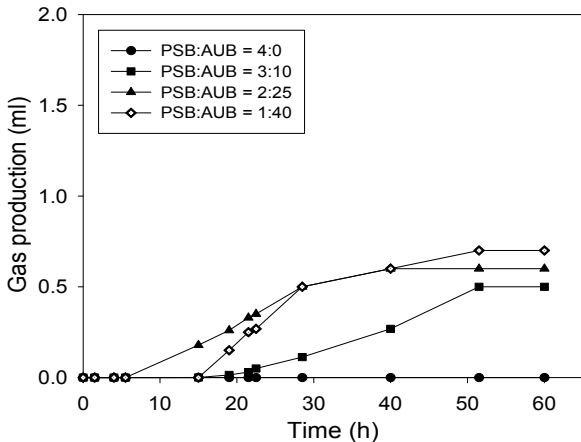


Fig. 5. Gas production at various mixing ratios of PSB cubes and AUB beads. Reactions were carried out on the PSB optimal medium at pH 7 and 30°C.

율이 커질수록 가스의 양과 생성속도는 증가하였고, 1:40의 혼합비율에서 최대 가스양(11ml)과 가스 생성속도(0.62ml/h)가 얻어졌다. 그러나, PSB cube 4개만을 넣은 control 반응의 가스 생성량은 0.2ml의 매우 적은 양이 생성되어 GC 분석이 어려워 생성된 가스의 성분을 확인할 수 없었다. PSB cubes의 가스 생성이 적은 것으로 보아 CTA cube는 가격이 저렴하고 장기간 사용에 대한 내구성이 크며 독성이 없다는 장점을 가지고 있으나[30,31], PVA bead보다는 기질에 대한 확산 제한을 더 많이 받는 것으로 보인다[28].

Table 4는 가스 생성반응의 결과를 나타내고 있는데, 앞서 혼합 beads 반응에서도 확인할 수 있었듯이, AUB beads의 혼합 비율이 높아질수록 최종 가스 생성량과 생성속도는 증가하지만 생성된 가스 중 N_2 의 조성 비율은 낮아짐을 알 수 있었다. 고정화 PSB:AUB의 혼합 비율이 4:0, 3:10, 2:25 및 1:40 일 때, 최종 pH값은 각각 6.85, 4.64, 4.39, 및 4.43으로 나타나, pH값을 많이 떨어뜨리는 AUB 균주에 의한 NH_4^+ 소모가 많이 일어남을 알 수 있었다[21].

PSB 최적 배지에서의 혼합 고정화균에 의한 N 제거 특성을 알아보기 위해 PSB cube 4개만을 넣은 반응을 control로 하여 AUB beads와의 혼합 비율에 따른 반응특성을 알아보았고, 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Control반응에서는 가스가 생성되지 않았으며, 혼합 균주반응에서의 가스 생성량은 0.5ml 밖에 생성되지 못했다. 이는 cubes가 앞서 언급한대로 기질이 cube속으로의 확산되는 과정에서 문제점을

안고 있는 것으로 나타났고, 가스 생성량이 적어 GC 분석을 통한 가스 성분 특성을 확인할 수 없었다. 고정화 PSB:AUB의 혼합 비율이 4:0, 3:10, 2:25 및 1:40 일 때, 최종 pH값은 각각 6.93, 6.05, 6.06 및 6.06으로 나타나, PSB 최적배지에서의 AUB에 의한 NH_4^+ 소모가 적게 일어났음을 알 수 있었다.

요 약

순환여과식 양어 생산시스템에 있어 발생하는 폐수의 효율적 처리를 위하여, 유독 질소성분 처리능력이 뛰어난 광합성세균(PSB)을 PVA에 고정화한 beads 또는 CTA에 고정화한 cubes와 NH_4^+ 를 잘 이용하는 균(AUB)을 고정화한 beads를 여러 비율로 혼합한 고정화 혼합균에 의한 N 제거 특성을 알아보았다.

AUB 최적 배지에서의 반응결과를 보면, 최대 가스 생성율은 PSB:AUB beads의 비율이 10:40 일 때, 0.87ml/h로 가장 높았고, 전체 beads 중 AUB beads의 혼합비율이 높을수록 가스 생성율이 높아짐을 알 수 있었다. PSB:AUB beads의 혼합비율이 50:0, 40:10, 25:25 및 10:40 일 때 pH값은 6.29, 6.01, 5.69 및 5.13으로 나타났다. 이에 반해 미량의 NH_4^+ 를 포함하는 PSB 최적배지에서의 반응결과를 보면, 전체 beads 중 AUB가 차지하는 비율이 높을수록 가스 생성량 및 가스 생성율은 현저하게 낮게 나타났다. 이때, pH값은 두 균주의 혼합 비율에 관계없이 약 6.5로 일정하게 나타났다. PSB cubes와 AUB beads를 여러 비율로 섞어 실험한 결과는 PSB beads와 AUB beads를 섞어 반응시킨 결과와 같은 경향을 보였으나 가스의 생성량 및 생성속도가 현저하게 감소하였고, control 반응에서도 가스 생성량이 0.2ml로 매우 적은 양이 발생하였다. 이상의 결과로 보아, NH_4^+ , NO_2^- 및 NO_3^- 성분이 들어있는 실제 양식폐수의 수질정화에 있어서 PSB:AUB beads를 10:40으로 혼합한 고정화 균주를 이용할 경우 폐수내 N 성분의 동시 제거에 효과적일 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 두산그룹 재단법인 연강재단의 지원에 의한 연구결과입니다.

참 고 문 헌

- Alcaraz, G. and Espina, S. 1995. Acute toxicity of nitrite in juvenile grass carp modified by weight and temperature. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **55**, 473-478.
- Ariga, O., Itoh, K., Sano, Y. and Nagura, M. 1994. Encapsulation of biocatalyst with PVA capsules. *J. Ferment. Bioeng.* **78**, 74-78.
- Balderston, W. L. and Sieburth, J. M. 1976. Nitrate removal in closed-system aquaculture by columnar denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**, 808-818.
- Brandt, B. W., Kelpin, F. D. L., van Leeuwen, I. M. M. and Kooijman, S. A. L. M. 2004. Modelling microbial adaptation to changing availability of substrates. *Water Res.* **38**, 1003-1013.
- Carvalho, G., Rikke, L., Meyer, Z. Y. and Keller, J. 2006. Differential distribution of ammonia- and nitrite- oxidizing bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor. *Enzyme Microb. Technol.* In Press.
- Chen, K.-C., Lee, S.-C., Chin, S.-C. and Houng, J.-Y. 1998. Simultaneous carbon-nitrogen removal in wastewater using phosphorylated PVA-immobilized microorganisms. *Enzyme Microb. Technol.* **23**, 311-320.
- Cho, K. S., Park, K. J., Jeong, H. D., Nam, S. W., Lee, S. J., Park, T. J. and Kim, J. K. 2006. Characteristics of immobilized PVA beads in nitrate removal. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**, 414-422.
- Dahab, M. F. 1978. Treatment alternatives for nitrate contaminated groundwater supplies. *J. Environ. Syst.* **17**, 65-69.
- Dahab, M. F. and Lee, Y. W. 1988. Nitrate removal from water supplies using biological denitrification. *J. Water Pollut. Control Fed.* **60**, 1670-1674.
- Drews, G. 1986. Adaptation of the bacterial photosynthetic apparatus to different light intensities. *Trends Biochem. Sci.* **11**, 255-257.
- Fuchs, W., Schatzmayr, R. and Braum, R. 1997. Nitrate removal from drinking water using a membrane-fixed biofilm reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **48**, 267-273.
- Grunditz, C. and Dalhammar, G. 2001. Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Res.* **35**, 433-440.
- Koku, H., Eroglu, J., Gunduz, U., Yucel, M. and Turker, L. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Int. J. Hydrogen Energy* **27**, 1315-1329.
- Kim, J. K., Lee, B. K., Kim, S. H., and Moon, J. H. 1999. Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from photosynthetic sludge. *Aquacult. Eng.* **19**, 179-193.
- Kim, J. K., Kim, S. H. and Kim, S. K. 2001. Characterization of immobilized denitrifying bacteria isolated from municipal sewage. *J. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 756-762.
- Kim, J. K., Park, K. J., Cho, K. S., Nam, S. Y. and Kim, Y. H. 2005. Characteristics of a water-purification system using immobilized photosynthetic bacteria beads. *Environ. Eng. Res.* **10**, 227-238.
- Meade, J. W. 1985. Allowable ammonia for fish culture. *Prog. Fish. Cult.* **47**, 135-145.
- Mirvish, S. S. 1977. N-nitroso compounds, nitrate and nitrite: Possible implications for the causation of human cancer. *Prog. Water Technol.* **8**, 195-201.
- Nagadomi, H., Hiromitsu, T., Takeno, K., Watanabe, M. and Sasaki, Ken. 1999. Treatment of aquarium water by denitrifying photosynthetic bacteria using immobilized polyvinyl alcohol beads. *J. Biosci. Bioeng.* **87**, 189-193.
- Nilsson, I., Ohlson, S., Haggstrom, L., Molin, N. and Mosbach, K. 1980. Denitrification of water using immobilized *Pseudomonas denitrificans* cell. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 261-274.
- Park, K. J., Cho, K. S., Kim, J. B., Lee, M. G., Lee, B. H., Hong, Y. K. and Kim, J. K. 2005. Isolation, identification and characterization of an immobilized bacterium producing N_2 from NH_4^+ under an aerobic condition. *Environ. Eng. Res.* **10**, 213-226.
- Sirianuntapiboon, S. and Srikul, M. 2006. Reducing red color intensity of seafood wastewater in facultative pond. *Bioresource Technol.* **7**, 1612-1617.
- Smith, C. E. and Williams, W. G. 1974. Experimental nitrite toxicity in rainbow trout and chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* **103**, 389-390.
- Sorg, T. J. 1978. Treatment technology to meet the interim primary drinking water regulation for inorganics. *J. Am. Water Works Assoc.* **70**, 105-111.
- St. Amant, P. P. and McCarty, P. L. 1969. Treatment of high nitrate waters. *J. Am. Water Works Assoc.* **6**, 695-701.
- Takabatake, H., Suzuki, K., Ko, I.-B. and Noike, T. 2004. Characteristics of anaerobic ammonia removal by a mixed culture of hydrogen producing photosynthetic bacteria. *Bioresource Technol.* 151-158.
- Westin, A. D. 1974. Nitrate and nitrite toxicity to salmonid fishes. *Prog. Fish. Cult.* **36**, 86-89.
- White, K. M., Smith, B. D., Duggan, P. J., Sheahan, S. L. and Tyndall, E. M. 2001. Mechanism of facilitated saccharide transport through plasticized cellulose triacetate membranes. *J. Membr. Sci.* **194**, 165-175.
- Whitson, J. and Turk, P. 1993. Biological denitrification in closed recirculating marine culture system. In: Wang, J. K. (Ed), *Technique for Modern Aquaculture*, Am. Soc. Agric. Eng., Michigan, pp.458.
- Yang, P. Y., Ma, T. and Chen, H. J. 1996. The PEMMC process for land-limited small wastewater-treatment plants. *Bioresource Technol.* **60**, 35-42.
- Yang, P. Y., Zhang, Z. Q. and Jeong, B. G. 1997. Simultaneous removal of carbon and nitrogen using an entrapped-mixed-microbial-cell process. *Water Res.* **31**, 2617-2625.