

## 생물전기화학반응기를 이용한 생물학적 탈질반응의 촉진

천지은 · 유재철 · 박영현 · 선지윤 · 조순자 · 이태호\*

부산대학교 사회환경시스템공학과

(2012년 5월 2일 접수; 2012년 7월 6일 수정; 2012년 8월 7일 채택)

## Acceleration of Biological Denitrification by Using Bioelectrochemical Reactor

Ji-Eun Chun, Jae-Cheul Yu, Young-Hyun Park, Ji-Yun Seon,  
Sun-Ja Cho, Tae-Ho Lee\*

Department of Environmental Engineering, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Manuscript received 2 May, 2012; revised 6 July, 2012; accepted 7 August, 2012)

### Abstract

Nitrate contamination of water environments can create serious problems such as eutrophication of rivers. Conventional biological processes for nitrate removal by heterotrophic denitrification often need additional organic substrates as carbon sources and electron donors. We tried to accelerate biological denitrification by using bioelectrochemical reactor (BER) in which electrode works as an electron donor. Denitrification activity of 8 environmental samples from various sediments, soils, groundwaters, and sludges were tested to establish an efficient enrichment culture for BER. The established enrichment culture from a soil sample showed stable denitrification activity without any nitrite accumulation. Microbial community analysis by using PCR-DGGE method revealed that dominant denitrifiers in the enrichment culture were *Pantoea* sp., *Cronobacter sakazakii*, and *Castellaniella defragrans*. Denitrification rate ( $0.08 \text{ kg/m}^3\text{-day}$ ) of the enrichment culture in BER with electrode poised at -0.5 V (vs Ag/AgCl) was higher than that ( $2.1 \times 10^{-2} \text{ kg/m}^3\text{-day}$ ) of BER without any poised potential. This results suggested that biological denitrification would be improved by supplying potential throughout electrode in BER. Further research using BER without any organic substrate addition is needed to apply this system for bioremediation of water and wastewater contaminated by nitrate.

**Key Words :** Bioelectrochemical systems, Denitrification, Enrichment, Nitrate-nitrogen

### 1. 서 론

질산성질소는 축산분뇨의 배출 및 과다한 비료 사용 등으로 인해 축산 및 농업지역의 지하수에서 고농

도로 검출되고 있다. 2009년 환경부의 조사 결과에 따르면, 지하수 수질기준을 초과한 296개 지점 중에서 약 50개 지점이 질소기준을 초과한 것으로 나타났다 (환경부, 2009). 미국환경보호청(US EPA, 2011)에서는 음용수의 질산성질소 및 아질산성질소 농도를 각각  $10 \text{ mg/L}$ ,  $1.0 \text{ mg/L}$ 로 규제하고 있지만, 우리나라에는 음용수 기준에서 질산성질소만  $10 \text{ mg/L}$ 로 규정하고 있다. 질산성질소는 영아가 섭취할 경우 청색증 (*Methemoglobinemia*, Blue baby 증후군)을 유발하며,

\*Corresponding author : Tae-Ho Lee, Department of Environmental Engineering, Pusan National University, Busan 609-735, Korea  
Phone: +82-51-510-2465  
E-mail: leeth55@pusan.ac.kr  
\*학위논문의 일부가 될 예정임

소화기관에서 암을 유발 할 수 있는 니트로사민(nitrosamine)으로 전환된다(Dermont 등, 1992). 또한 토양 및 지하수로 침투된 질산성질소는 오랜 기간동안 분해되지 않고 체류하며, 시간경과에 따라 오염도가 심화되기 때문에 하폐수뿐만 아니라 오염토양 및 지하수에서 질산성질소의 처리는 중요하다.

일반적으로 질산성질소를 제거하기 위하여 물리화학적 방법과 생물학적 방법이 적용되고 있다. 널리 사용되는 물리화학적 방법에는 역삼투압법, 이온교환법, 전기투석법, 활성탄흡착법 등이 있지만, 농축수의 처리를 위한 추가적인 공정도입 등의 문제가 있다(Ergas 와 Reuss, 2001; Feleke 와 Sakakibara, 2002; Islam 과 Suidan, 1998; Prosnansky 등, 2002; Shrimali 와 Singh, 2001). 생물학적 탈질방법은 질산성질소를 질소가스로 전환하므로 더 이상 추가적인 공정을 필요로 하지 않는 근본적인 처리방법이다. 생물학적 탈질방법은 물리화학적인 방법에 비하여 처리속도가 느리다는 단점은 있지만 훨씬 친환경적이고 경제적인 방법으로 알려져 있다.

전통적인 생물학적 탈질방법으로 유기물을 탄소원과 전자공여체로 이용하는 종속영양미생물에 의한 탈질반응을 적용해 왔다. 그러나 탈질과정에 필요한 유기물이 항상 자연환경에 풍부하게 존재하는 것은 아니므로, 부족한 유기물을 메탄올, 에탄올, 아세테이트, 글루코스와 같은 외부 유기탄소원 공급으로 보충해야 하는 경우가 많다. 특히, 우리나라 하수의 경우에는 질소화합물의 농도에 비하여 유기물의 농도가 낮아, 대부분의 하수처리장에서 외부탄소원을 주입하고 있다. 이는 과다한 처리비용의 원인이 되며, 다른 종속영양균과의 경쟁으로 인한 효율저하 및 높은 바이오매스 생성량과 그 과정에서 발생하는 발효산물로 인한 2차 오염이라는 문제점이 있다. 지하수는 하수에 비해 상대적으로 훨씬 낮은 유기물 농도를 가지므로 오염토양 및 지하수에서 질산성질소를 처리하기 위해서는 유기탄소원의 추가 공급 없이 미생물의 산화환원반응을 유도할 수 있어야 한다.

한편 전자공여체로서 무기물이나 전극을 이용하는 독립영양미생물에 의한 탈질반응은 최근에 와서야 활발히 연구되고 있으며, 실제 공정으로 적용되기 시작하는 단계에 있다. 독립영양탈질은 주로 수소 또는 환

원된 형태의 황화합물을 전자공여체로 이용하여 탄산염을 탄소원으로 이용하기 때문에 바이오매스 생성량이 적어 슬러지처리 비용을 낮출 수 있다(Shrimali 와 Singh, 2001; Rijin 등, 2006). 그러나 전자공여체로 황화합물을 이용할 경우에는 악취문제가 발생할 수 있으며, 수소를 이용할 경우에는 수소의 낮은 용존성 해결과 생산, 운반, 저장시설에 과다한 비용이 발생할 수 있다. 최근에는 전극을 전자공여체로 이용하고, 질산염, 유기염소화합물 등 오염물질을 전자수용체로 이용하는 생물전기화학적 방법에 의한 처리방법이 주목받고 있다(Gregory 등, 2004; Clauwaert 등, 2007; Park 등, 2005).

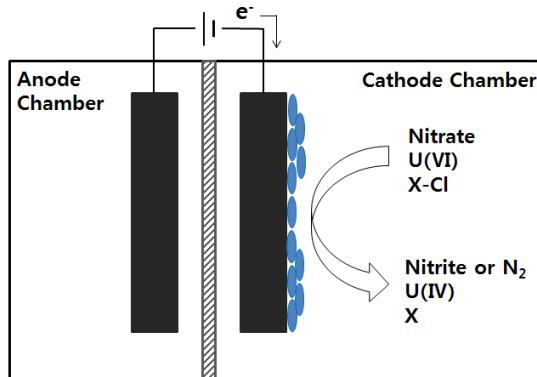


Fig. 1. Schematic diagram of bioelectrochemical reactors for reductive degradation of contaminants.

하지만 현재까지 수행된 연구에서 전극을 전자공여체로 이용하는 미생물 종은 매우 제한적이고, 순응 및 농화배양에 상당한 시간이 요구되며 그 메커니즘 또한 밝혀지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 다양한 지역의 시료를 식중원으로 하여 탈질미생물을 농화배양 하였고, 탈질능력이 우수한 농화배양 미생물을 생물전기화학 반응기에 식중하여 호전극미생물(Louro 등, 2011)에 의한 생물전기화학적인 질소제거 효율을 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 탈질 미생물 농화배양

탈질 미생물을 농화배양하기 위하여 다양한 지역

에서 퇴적토, 토양, 지하수, 슬러지 등 총 8개의 시료를 채취하였다. 낙동강의 둔저도(SE1)와 수안천 합류지점의 퇴적토(SE2), 부산 온천천 하류지점(SO<sub>1</sub>), 부산대학교 교내 계곡의 토양(SO<sub>2</sub>), 부산 녹산공단지역의 지하수(GW1, GW2), 부산시 수영하수처리장의 폭기조(ACS)와 혐기성 소화조 슬러지(ANS)를 채취하여 식종하였다. 배지조성은 Table 1과 같고 탄소원으로는 글루코스를, 질소원으로는 질산칼륨을 사용하여 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/L로 주입하였다. 100 mL 유리병에 가압·가열 조건(121°C, 15 min)에서 멸균한 배지 49 mL을 첨가하고 각 시료 1 g(또는 1 mL)을 식종하였다.

**Table 1.** Anaerobic medium composition used in this study

Components	Concentration (g/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0
KNO <sub>3</sub>	0.78
Glucose	1.0
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.1
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	500 μL/L

반응기 내부의 기상부분은 N<sub>2</sub> 가스를 10분 간 주입하여 혐기성 상태를 조성하였으며, 반응기는 고무마개와 알루미늄 캡으로 밀폐하고 30°C 배양기 내에서 7일간 배양하였다. 그리고 미생물을 주입하지 않은 조건을 대조군으로 배양하였으며, 모든 실험을 duplicate로 수행하였다. 질산성 및 아질산성질소 농도를 매일 분석하였으며, 탈질효율은 식(1)을 적용하여 산출하였다.

다양한 식종원을 평가한 결과 아질산성질소의 축적 없이 높은 탈질효율을 나타낸 토양시료 배양액 1 mL를 새로운 배지 49 mL에 첨가하여 동일한 조건에

서 농화배양을 반복하였다.

$$D.E. = \frac{(NO_3 - N)_0 - [(NO_3 - N)_0 + (NO_2 - N)_t]}{(NO_3 - N)_0} \times 100 \quad (1)$$

여기서, D.E. : 탈질효율(%), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N<sub>0</sub> : 초기 질산성질소 농도(mg/L), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N<sub>t</sub> : 시간 t에서의 질산성질소 농도(mg/L), NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N<sub>t</sub> : 시간 t에서의 아질산성질소 농도(mg/L)이다.

## 2.2. 미생물 군집분석

농화배양 과정에서의 미생물 군집변화를 관찰하기 위하여 첫 번째 농화배양액과 11번째 농화배양액으로부터 미생물을 채취하였다. 채취한 미생물 샘플은 DNA추출 kit(Power Soil DNA, MO BIO Laboratories, Inc., USA)를 이용하여 DNA를 추출하였고, 추출 된 DNA로부터 16S rRNA유전자를 증폭하기 위한 polymerase chain reaction(PCR)을 실시하였으며, PCR 산물을 대상으로 DGGE를 실시하였다. PCR 용액은 0.5 mL 튜브에 10 × Taq buffer 2.5 μL, 10 mM dNTP 10 μL Eub 10F 0.25 μL, Eub 1400R 0.25 μL, Taq DNA polymerase (Solgent Co., Korea) 0.125 μL를 첨가하고 나머지는 멸균수를 첨가하여 총 부피 50 μL가 되도록 제조하였다. PCR을 위한 primer는 Eub 10F와 Eub 1400R을 사용하였으며(Table 2), PCR 조건은 Table 3과 같다. PCR 산물은 1% agarose gel에 전기영동한 후 ethidium bromide (0.5 mg/L)로 염색하여 확인하였으며, PCR 정제 kit(Solgent Co., Korea)를 사용하여 정제하였다(Yu 등, 2010, 2012).

정제한 PCR 산물을 템플레이트로 사용하여 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)를 위한 2차 PCR을 수행하였으며, primer로 GC clamp가 수식

**Table 2.** PCR primers used in this study

Primer	Target	Sequence(5'-3')	Ref.
Eub 10F	Eubacteria	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG	Weisburg <i>et al.</i> (1991)
Eub 1400R	Eubacteria	ACG GGC GGT GTG TAC AAG	Nishimura <i>et al.</i> (1993)
Eub 340F(GC)	Eubacteria(V3)	CCT ACG GGA GGC AGC AG	Muyzer <i>et al.</i> (1993)
Eub 518R	Eubacteria(V3)	ATT ACC GCG GCT GCT GG	Muyzer <i>et al.</i> (1993)

GC clamp sequence : 5'- CGC CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GC - 3'

**Table 3.** PCR condition used in this study

Primer	PCR conditions
Eub 8F/1392R	9 min 95°C, followed 30 cycle of 1 min at 95°C, 1 min 53°C, 2 min 72°C followed by a 10 min final extension at 72°C
Eub 341F(GC)/518R	9 min 95°C, followed 35 cycle of 1 min at 95°C, 1 min 55°C, 2 min 72°C followed by a 10 min final extension at 72°C

된 Eub 340F와 Eub 518R을 이용하였다(Table 2). PCR 조건은 Table 3과 같다. DGGE를 위하여 30-60% (변성제 농도 100%는 7 M Urea와 40% formamide를 의미)의 농도구배가 있는 acrylamide gel을 제조하여 사용하였다. PCR 산물을 겔에 주입한 후 D-code system (model 475 Gradient delivery system, Bio-Rad laboratories, Inc., USA)를 이용해서 20V에서 15분간, 200V에서 6시간동안 60°C에서 전기영동을 수행하였다. DGGE band는 UV trans illuminator (UVitec gel documentation system, Cambridge, UK)를 이용하여 확인하였다(Yu 등, 2010, 2012).

### 2.3. 생물전기화학반응기에서 탈질효율 평가

생물전기화학반응기에 농화배양 된 탈질미생물을 접종하여 전극을 전자공여체로 이용한 탈질 가능성을 평가하였다. 전극을 전자공여체로, 질산성질소를 전자수용체로 이용하는 탈질 가능성을 평가하기 위하여, 생물전기화학반응기의 환원전극에 탈질 농화배양액을 식종하였다. 본 연구에 사용된 생물전기화학반응기의 총 용적은 280 mL이고, 양이온교환막(nafion 117, Dupont Com., USA)를 분리막으로 사용하였다. 탄소펠트를 산화전극과 환원전극으로 사용하고 티타늄 도선을 이용하여 연결하였으며, Ag/AgCl 기준전극 (Basi, MF-2052, USA)을 사용하였다. 환원전극과 기준전극의 전위는 일정전위기(potentiostat, WMPG1000, Wonatech, Korea)를 사용하여 -0.5V(vs Ag/AgCl)로 유지하였다. 생물전기화학반응기에 Table 1과 동일한 배지 250 mL를 첨가하였으며, 질산성질소는 0.78 g/L(100 mg N/L)를 주입하고 탈질 농화배양 미생물을 식종하였다. 반응기 내부는 99.9%의 질소가스로 치환하여 혐기성 상태를 유지하였다. 생물전기화학반응기는 전자공여체로써 유기탄소원(글루코스)과 전위가 동시에 공급되는 조건(실험군)과 전위공급 없이 유기탄소원만 주입한 조건(대조군)으로 운전하였다.

### 2.4. 분석방법

농화배양과정 및 생물전기화학반응기 내 탈질효율을 평가하기 위하여 각 실험 조건에서 시료를 채취하여 0.22 μm 필터로 여과한 후, 이온크로마토그래피 (DX-300, DIONEX, USA)를 이용하여 질산성질소와 아질산성질소를 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 다양한 식종원의 탈질 활성 평가

퇴적토, 토양, 지하수, 슬러지 내에 존재하는 미생물의 탈질 특성을 회분식 실험을 통해 평가하였다. 탈질 효율은 Table 4에 나타내었으며, 전체적인 탈질효율은 62.5% - 83.6%로 자연계에 탈질미생물이 널리 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 활성(ACS) 및 혼기성 슬러지(ANS)의 경우, 탈질효율은 83.6% 및 78.4%로 높게 나타났으며, 토양(SO1)과 퇴적토(SO2)에서도 70.5% 및 80.6%의 비교적 높은 탈질 효율을 확인할 수 있었다. 하지만, 지하수(GW)를 식종한 경우에는 63.3%이하의 상대적으로 낮은 탈질효율이 나타났으며, 이는 상대적으로 낮은 종 다양성을 갖는 지하수의 특성으로 판단된다. 아질산성질소 농도의 범위는 0 - 1.5 mg/L 으로 나타났지만, 토양시료(SO1)의 경우 아질산성질소가 축적되지 않는 것을 확인할 수 있었다.

활성슬러지(ACS)를 식종원으로 이용한 경우, 탈질효율은 83.6%로 가장 높게 나타났지만, 아질산성질소 농도가 1.5 mg/L로 가장 높게 축적된 것으로 나타났다. 아질산성질소는 탈질과정에서 생성되는 중간산물이지만, 일반적으로 활성슬러지를 이용하는 탈질과정에서는 아질산성질소의 축적이 관찰되지 않을 만큼 질소가스로의 환원속도가 빠르다(Meinholt 등, 1999). 하지만 탄소원으로서 글루코스 또는 아세테이트를 사용하는 경우에는 아질산성질소의 축적이 축진

된다는 보고가 있다(Błaszczyk 등, 1980; Wilderer 등, 1987). 본 연구에서도 같은 이유로 다른 식종원에 비해 활성슬러지(ACS)를 식종원으로 이용한 경우에 아질산성질소의 농도가 높게 축적된 것으로 추측된다. 반면에, 토양시료(SO1)의 경우 탈질효율이 78.1%로 활성슬러지(ACS)의 경우보다 약 5.5% 낮았지만, 아질산성질소의 축적은 관찰되지 않았다.

따라서 토양(SO1)의 미생물배양액을 탈질미생물 농화배양을 위한 식종원으로 선정하여, 30 mL 용량의 배양배지에서 계대배양을 수행하였다. 초기 농화 배양 기간 동안, 100 mg/L의 지산성질소가 탈질하는 데 5~6일 정도가 소요되었지만, 4번째 농화배양 이후에는 3~4일 이내에 질산성질소가 안정적으로 제거되었다(Fig. 2.).

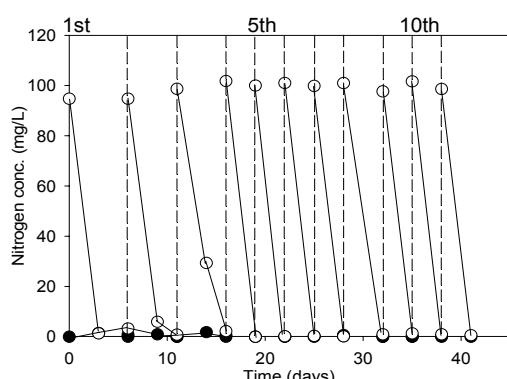


Fig. 2. Nitrite and nitrate concentrations in the denitrifying enrichment culture during the enrichment process ( $\circ$ ,  $\text{NO}_3^-$ -N, ●,  $\text{NO}_2^-$ -N).

Table 4. Denitrification efficiency and accumulated nitrite concentration in bacterial cultures inoculated with various environmental sources

Inoculum	Characteristics	Denitrification Efficiency (%)	Accumulated $\text{NO}_2^-$ -N Conc. (mg-N/L)
SE1	Sediment from Nakdong river	70.5	0.5
SE2	Sediment from Nakdong river	80.6	0.3
SO1	Soil from near the Oncheon river	78.1	0
SO2	Soil from near the Mirinae valley	78.9	0.7
GW1	Groundwater from near the plants	62.5	0.5
GW2	Groundwater from near the plants	63.3	0.8
ACS	Activated sludge from sewage treatment plant	83.6	1.5
ANS	Anaerobic sludge from sewage treatment plant	78.4	0.3

(SE: Sediment, SO: Soil, GW: Groundwater, ACS: Activated Sludge, ANS: Anaerobic Sludge)

### 3.2. 미생물군집 해석

농화배양과정에서 미생물의 군집변화를 알아보기 위해 식종원으로 사용한 토양시료(SO1), 첫 번째 농화배양 미생물, 안정적인 탈질효율을 나타낸 11번째 농화배양 미생물의 DNA를 추출하고 PCR-DGGE를 수행하였다(Fig. 3.).

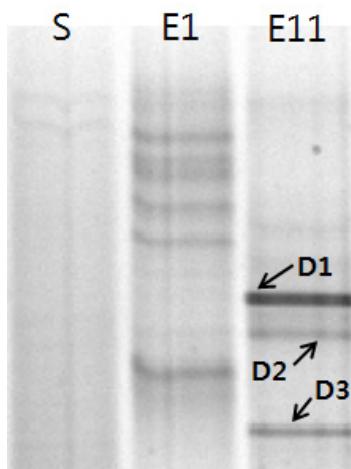


Fig. 3. DGGE band profile of PCR amplified 16S rRNA gene fragments (S: Soil Inoculum, E1: 1st enrichment cycle, E11: 11th enrichment cycle).

DGGE 결과, 농화배양이 진행됨에 따라 DGGE band가 단순화 되는 것을 확인할 수 있으며 특정 미생물로 우점화 되는 것으로 판단할 수 있었다. 11번째 농화배양액의 DGGE band 중 우점화 되었다고 판단

**Table 5.** Taxonomic identification of DGGE bands extracted from the PCR-DGGE profile shown in Fig. 3

Band name	The closest sequence	Phylum	Access No.	Similarity (%)	Function	Ref.
D1	<i>Pantoea</i> sp. enrichment culture clone YFZ27	Gammaproteobacteria	GQ273907	99	Reduce nitrate to nitrite	Zhang <i>et al.</i> (2011)
D2	<i>Pantoea</i> sp. FCTS 303	Gammaproteobacteria	JQ917456	100	nitrate reduction	-
D3	<i>Castellaniella defragnans</i> strain ST4	Betaproteobacteria	FJ982930	97	nitrate reduction	-

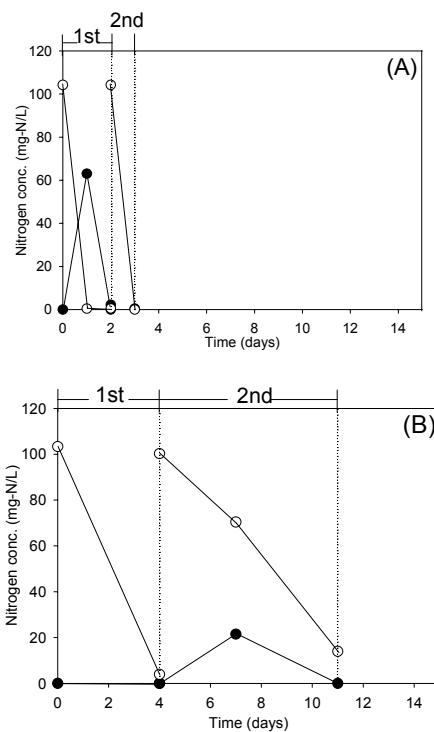
되는 3개의 밴드를 추출하여 염기서열을 분석한 결과, 질산성질소를 환원하는 능력이 있는 미생물임을 확인할 수 있었다(Table 5).

안정적인 탈질효율을 나타낸 11번째 농화배양액의 DGGE band D1은 *Pantoea* sp. enrichment culture clone YFZ27과 99%의 높은 유사도를 나타냈으며, 이 종은 Gammaproteobacteria에 속한다. band D1은 식 종원과 첫 번째 농화배양 과정에서 거의 관찰되지 않지만, 11번째 농화배양 과정에서 선명도가 가장 강하게 나타났으므로 S1을 이용한 탈질미생물 농화배양에서 band D1이 가장 우점화된 것으로 나타났다. 미생물연료전지의 기질 전환에 따른 군집변화를 관찰한 연구에서 *Pantoea* sp.는 글루코스로 농화배양 된 미생물연료전지에 아세테이트를 기질로 공급했을 때 산화전극의 생물막에서 발견되었고, 질산성질소를 아질산성질소로 환원시킨다고 알려져 있다(Zhang 등, 2011). 탈질에 가장 큰 영향을 미칠 것으로 예상되는 이 종은 글루코스가 다른 종속영양미생물에 의해 분해되면 그 이차부산물을 전자공여체로 사용하여 질산성질소를 아질산성질소로 환원할 것이다.

band D2와 D3은 *Pantoea* sp. FCTS 302 및 *Castellaniella defragnans* strain ST4와 각각 100% 및 97%의 유사도를 나타냈으며, 각각 Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria에 속한다. *Pantoea* sp.는 질산성질소를 환원하는 능력이 있으며(Mergaert 등, 1999), *C. defragnans* sp.는 질산성질소에서 아질산성질소로, 아질산성질소에서 질소가스로의 환원을 수행하며, 글루코스를 포함하는 다양한 종류의 기질을 이용할 수 있다(Liu 등, 2008). 따라서 본 연구에서 구축된 농화배양액에는 질산성 질소를 전자수용체로 이용하는 탈질미생물 군집이 효과적으로 형성되었음을 확인할 수 있었다.

### 3.3. 생물전기화학반응기의 탈질 효율 평가

농화배양 된 탈질미생물을 생물전기화학반응기의 환원부에 주입하고 전극을 전자공여체로 이용하는 생물전기화학적 탈질을 두 차례 반복 수행하였다. 전자공여체로써 유기탄소원과 전극을 동시에 공급한 경우(Fig. 4. (A)), 첫 번째 주입한 100 mg/L의 질산성질소는 1일 이내에 완전히 제거되었지만, 60 mg/L의 아질산성질소가 축적되었고, 이는 2일 이내에 모두 제거되는 것으로 확인되었다. 두 번째 주입한 질산성질소는 이러한 아질산성질소의 축적 없이 1일 이내에 모두 제



**Fig. 4.** Denitrification efficiency with glucose and potential(A), with glucose(B) (○, NO<sub>3</sub>-N, ●, NO<sub>2</sub>-N).

거됨을 확인하였다. 전자공여체로써 유기탄소원만 제공했을 경우(Fig. 4. (B)), 첫 번째 주입한 100 mg/L의 질산성질소는 4일 만에 분해되었지만 두 번째 주입한 질산성질소의 분해에는 7일이 소요되었다.

반복된 실험에서 질산성질소의 분해가 늦어진 이유는 분명하지 않지만, 첫 번째 주입된 질산성질소는 전극에 흡착되는 등 비생물학적 반응에 의해 질산성질소 농도가 감소되는 것으로 추측된다. 이 때 각 조건에서의 탈질률은 약  $0.02 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ ,  $0.08 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ 로 나타났으며, 전자공여체로써 전극과 유기탄소원을 함께 공급했을 경우가 유기탄소원만 공급했을 때보다 약 4배 증가한 탈질률을 보였다. Park 등(2011)의 연구에서 액상 황 폐기물을 전자공여체(및 알칼리원)로 이용한 독립영양탈질에서 최적 부하율이  $0.15 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$  일 때, 질소제거율이  $0.12 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ 로 나타났다. 또한 Clauwaert 등(2007)의 연구에서 유기물 제거 및 전기생산과 동시에 탈질을 수행하는 미생물연료전지에서는  $0.08 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ 의 탈질률을 얻었다. 본 연구에서 전극과 유기물을 전자공여체로 동시에 제공하여 얻어진  $0.08 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ 의 탈질률은 황을 이용한 독립영양탈질에서 얻어진 값보다는 낮았지만, 생물전기화학반응기를 적용하여 얻어진 값과는 유사한 것으로 나타났다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 다양한 식종원을 대상으로 탈질 활성을 평가하고, 생물전기화학반응기에서 질산성 질소의 탈질특성을 평가한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 다양한 환경시료를 식종원으로 한 혼기성 미생물 배양액을 이용하여 탈질 활성을 평가한 결과, 모든 식종원에서 탈질 활성을 확인할 수 있었다. 특히, 토양(S1)을 식종원으로 이용한 경우 아질산성질소의 축적없이 80% 이상의 안정적인 탈질효율을 보였다.
- 2) 토양(SO1)을 식종원으로 이용하여 구축된 농화 배양액의 미생물 군집을 분석한 결과, *Pantoea* sp., *C. defragrans* sp.와 같은 탈질 미생물 군집

이 형성되었음을 확인할 수 있었다.

- 3) 생물전기화학반응기에서 질산성질소의 환원을 평가한 결과, 유기탄소원과 전극을 동시에 전자공여체로 제공하는 경우의 탈질효율( $0.08 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ )이 전위가 공급되지 않는 조건( $0.02 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{day}$ )보다 약 4배 증가하는 것을 확인할 수 있었다.
- 4) 추가적인 연구를 통해서, 유기탄소원의 공급 없이 전극을 전자공여체로 이용하는 탈질미생물에 의한 탈질평가를 수행하고, 탈질 메커니즘을 밝혀낸다면 생물전기화학적 탈질 기술은 획기적인 탈질 기술로 적용될 수 있을 것으로 기대된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단(과제번호 2010-0021578) 및 제 2 단계 두뇌한국21사업에 의하여 지원을 받아 수행한 연구입니다.

#### 참 고 문 헌

- 환경부, 2009, <http://www.me.go.kr>.
- Blaszczyk, M., Mycielski, T., Jaworowska-Deptuch, H., Grzostek, K., 1980, Effect of various sources of organic carbon and high nitrite and nitrate concentrations on the selection of denitrifying bacteria. I. Stationary cultures, *Acta Microbiol. Pol.*, 29(4), 397-406.
- Clauwaert, P., Rabaey, K., Aelterman, P., Schampheire, L. D., Pham, T. H., Boeckx, P., Boon, N., Verstraete, W., 2007, Biological denitrification in microbial fuel cells, *Environ. Sci. Technol.*, 41(9), 3354-3360.
- Dermont, C. B., Mary, K. W., Rao, Y. S., 1992, Nitrate contamination of groundwater: Sources and potential health effects, *J. AWWA*, 84(9), 85-90.
- EPA, US., 2011, National Primary Drinking Water Standards, EPA, [www.epa.gov/safewater](http://www.epa.gov/safewater)
- Ergas, S. J., Reuss, A. F., 2001, Hydrogenotrophic denitrification of drinking water using a hollow fibre membrane bioreactor, *J. Water Supply: Res.*

- Technol., 50(3), 161-171.
- Feleke, Z., Sakakibara, Y., 2002, A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide, *Water Research*, 36(12), 3092-3102.
- Gregory, K. B., Bond, K. R., Lovley, D. R., 2004, Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration, *Env. Microbiology*, 6(6), 596-604.
- Islam, S., Suidan, M. T., 1998, Electrolytic denitrification: Long term performance and effect of current intensity, *Water Res.*, 32(2), 528-536.
- Liu, Q. M., Ten, L. N., Im, W. T., Lee, S. T., 2008, Castellaniella caeni sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from sludge of a leachate treatment plant, *IJSEM*, 58(9), 2141-2146.
- Meinhold, J., Arnold, E., Isaacs, S., 1999, Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge, *Water Research*, 33(8), 1871-1883.
- Muyzer, G., Waal, E. C., Uitterlinden, A. G., 1993, Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding 16S rRNA, *Am. Soc. Microbiol.*, 59(3), 695-700.
- Nishimura, R., Kashishian, W. L. A., Mondino, A., Zhou, M., Cooper, J., Schlessinger, J., 1993, Two signaling molecules share a phosphotyrosine containing binding site in the PDGF receptor, *Am. Soc. Microbiol.*, 13(11), 6889-6896.
- Park, H. I., Kim, D., Choi, Y. J., Pak, D., 2005, Nitrate reduction using an electrode as direct electron donor in a biofilm-electrde reactor, *Process Biochemistry*, 40(10), 3383-3388.
- Park, S., Yu, J., Byun, I., Cho, S., Park, T., Lee, T., 2011, Microbial community structure and dynamics in a mixotrophic nitrogen removal process using recycled spent caustic under different loading conditions, *Bioresource Technol.*, 102(15), 7265-7271.
- Prosnansky, M., Sakakibara, Y., 2002, High-rate denitrification and SS rejection by biofilm-electrode reactor(BER) combined with microfiltration, *Water Res.*, 36(19), 4801-4810.
- Rijin, J. V., Tal, Y., Schreier, H. J., 2006, Denitrification in recirculating systems: theory and applications, *Aquacul. Eng.*, 34(3), 364-376.
- Shrimali, M., Singh, K. P., 2001, New methodes of nitrate removal from water, *Environ. Pollut.* 112(3), 351-359.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., Lane, D. J., Bacteriol., J., 1991, 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study, *Am. Soc. Microbiol.*, 173(2), 697-703.
- Wilderer, P. A., Jones, W. L., Dau, U., 1987, Competition in denitrification systems affecting reduction rate and accumulation of nitrite, *Water Res.*, 21(2), 239-245.
- Yu, J., Kim, D., Lee, T., Microbial diversity in biofilm on water distribution pipes of different materials, *Water Science Technology*, 61, 163-171(2010).
- Yu, J., Cho, S., Kim, S., Cho, H., Lee, T., Comparison of exoelectrogenic bacteria detected by using two different methods: U-tube microbial fuel cell and plating method, *Microbes and Environments*, 27(1), 49-53(2012).
- Zhang, Y., Min, B., Huang, L., Angelidaki, I., 2011, Electricity generation and microbial community response to substrate changes in microbial fuel cell, *Bioresource Technology*, 102(2), 1166-1173.