

Review

생물학적 하폐수처리과정에서 N₂O 배출 및 저감에 관한 고찰

조경숙*

이화여자대학교 환경공학과

Received: April 24, 2018 / Revised: July 2, 2018 / Accepted: July 9, 2018

A Review on Emission and Mitigation of N₂O in Biological Wastewater Treatment

Kyung-Suk Cho*

Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 03760, Republic of Korea

Nitrous oxide (N₂O) is a potent greenhouse gas as well as an ozone-depleting substance. N₂O is emitted during the biological nitrogen removal process in wastewater treatment systems (WTSs), and has significant environmental impacts. In this study, N₂O emission in WTSs was comprehensively reviewed to better understand the effects of key parameters on N₂O emission and obtain useful guidelines for N₂O mitigation strategies in WTSs. Three biological pathways leading to N₂O emission are hydroxylamine oxidation, nitrifier denitrification, and heterotrophic denitrification. Measurements at lab-, pilot- and full-scale WTSs have shown large variations in N₂O emission (0–95% of N-loaded) during wastewater treatment. In the full-scale WTSs (0–14.6% N₂O of N-loaded), the average and median values were 1.95% and 0.2% of N-loaded, respectively. Dissolved oxygen, nitrite concentrations, and chemical oxygen demand (COD)/N ratio are the most important parameters leading to N₂O emission. A variety of operational strategies have been suggested to minimize N₂O emission from WTSs. A new N₂O mitigation strategy involving the introduction of microorganisms with high N₂O reductase activity or oxygenic denitrification ability has been proposed as an alternative canonical denitrification.

Keywords: Nitrous oxide (N₂O), wastewater treatment, nitrification, denitrification, greenhouse gas mitigation

서론

산업혁명 이후 온실가스 증가로 인한 기후변화는 지구생태계를 위협하는 전지구적인 문제로 대두되고 있다. 기후변화협약 이후 탄소배출권 거래, 탄소세 부과 등과 같은 국제 공동대책 및 다양한 정책이 수립·시행되고 있으며, 관련 분야의 연구가 활발하게 진행되고 있다. 온실가스의 배출저감에 대한 필요성 및 요구는 산업시설 뿐 만 아니라, 하폐수 및 폐기물 처리 등 환경 분야까지도 확대되고 있다. 전 지구적 기후변화를 초래하는 온실가스 중의 하나인 아산화질소(N₂O)는 무색의 기체로 대기 중 체류시간이 116년으로 매우 길고 [1], 지구온난화 잠재력이 이산화탄소보다 310배 크다[2]. 또

한, 아산화질소는 성층권 오존층을 파괴하는 물질로[3], 온실가스 관리 분야 뿐 아니라 오존층 연구 분야에서도 아산화질소의 배출 및 거동에 관한 정보는 앞으로 점점 더 중요성이 커질 것으로 전망된다. 1750년 대기 중 아산화질소 농도는 270 ± 7 ppb로 추정되며, 2011년 대기 중 아산화질소 농도는 324.2 ppb이었다[2]. 아산화질소 농도가 증가하는 이유는 화석연료 사용량, 농업 등 인위적인 생물학적 질소 고정량이 증가하고 있으며, 화학공정에 의한 비료 생산량도 증가하고 있기 때문이다[2]. 기후변화시나리오 예측에 의하면 2100년 대기 중 아산화질소 농도는 345–435 ppb까지 증가할 것으로 전망되고 있어[2], 아산화질소 배출량을 저감하기 위한 다각적인 측면의 노력이 필요하다.

아산화질소 생성과 소멸은 질소의 생지화학적 순환과 연관되어 있는데, 특히 (미)생물에 의한 질산화와 탈질과정에서 주로 생성되고 소멸되기도 한다[4, 5]. 아산화질소의 자연적인 발생원은 열대지역의 토양이 주요한 발생원이고, 해양

*Corresponding author

Tel: +82-2-3277-2393, Fax: +82-2-3277-3275

E-mail: kscho@ewha.ac.kr

© 2018, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

및 온대지역 토양 순으로 아산화질소가 많이 배출된다[2]. 아산화질소의 인위적인 발생원은 농경지에서 가장 많이 배출되고(70%), 화석연료 연소와 산업공정(10%), 바이오매스 연소(10%), 대기침적(9%) 및 하폐수 처리공정(3%) 등에서 배출된다[2].

하폐수 처리공정 유래의 전지구적 아산화질소 배출량은 2010년 기준으로 108 MtCO₂ eq로 추정되며, 이는 전지구적 인위적 아산화질소 배출량(6.9 Tg-N/y)의 약 3.4%에 해당된다[2]. 하폐수 처리과정에서 배출되는 아산화질소량은 정수 공정, 물 수송 및 하폐수 처리 과정 등을 포함한 물 관련 분야에서 배출되는 아산화질소 배출량의 약 26% 정도 차지하고 있는 것으로 추정된다[6].

본 논문에서는 생물학적 하폐수 처리과정에서 아산화질소 배출량 및 아산화질소 생성에 미치는 여러 환경인자와 공정인자의 영향에 대한 최신 연구 동향을 정리하였다. 또한, 하폐수 처리과정 아산화질소 배출을 감소시키기 위한 공정 개선 및 생물학적 저감 기술 개발에 관한 동향을 고찰하였다. 본 논문의 종합 고찰 결과는 향후 하폐수 처리과정에서 온실가스인 아산화질소 배출 저감 기술을 개발하고 아산화질소를 포함한 환경기초시설 분야의 온실가스 관리 정책을 수립하는데 활용 가능할 것으로 사료된다.

하폐수 처리 공정에서 주요 아산화질소 생성 기작

하폐수 처리공정에서 질소 제거 공정은 방류수에 의한 수환경의 부영양화 방지를 위해 매우 중요한 과정이다. 전형적인 생물학적 질소 처리 과정은 질산화(nitrification) 과정과 탈질(denitrification) 과정으로 구분된다. 질산화 과정에서 독립영양세균인 암모니아 산화균에 의해 암모늄 이온이

아질산염으로 산화되고, 독립영양세균인 아질산염 산화균에 의해 아질산염은 질산염으로 산화된다[4, 7]. 탈질과정은 질산 → 아질산 → 산화질소 → 아산화질소 → 질소의 순서로 진행되는데, 대부분의 탈질세균은 통성혐기성 세균이다[4, 7].

하폐수 처리공정에서 아산화질소가 배출되는 주요 공정은 (1) hydroxylamine (NH₂OH) 산화, (2) 질산화균에 의한 탈질공정(nitrifier denitrification) 및 (3) 종속영양 탈질공정(heterotrophic denitrification)의 3가지 경로(pathway)로 구분된다(Fig. 1) [4, 8, 9]. 암모늄 이온은 ammonia monooxygenase (Amo)에 의해 hydroxylamine으로 산화되고, hydroxylamine은 hydroxylamine oxidoreductase (Hor)에 의해 아질산염으로 산화된다. 이 과정에서 hydroxylamine이 아질산염으로 완전 산화되지 않으면 아산화질소가 생성된다(hydroxylamine oxidation pathway). 암모니아 산화반응은 암모니아 산화세균(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)에 의해 주로 진행되는데, 최근에는 암모니아 산화 고세균(ammonia-oxidizing archaea, AOA)이 본 과정에 관여하는 것이 밝혀졌다[10]. AOA는 용존산소 농도가 낮고 고형물의 체류시간이 길면 출현하는데, 이 고세균은 종속영양 조건에서 암모니아를 산화하며, AOB에 비해 암모니아 산화속도가 100-1000배 느리다[11]. 유기물 부하량이 높은 조건(COD/N > 10)에서도 AOB보다 AOA가 우점종이 된다는 연구도 보고된 바 있다[12]. 질산화 과정에서 아산화질소 배출량에 대한 AOB와 AOA의 기여도가 어느 정도인지 명확하지 않으므로, 향후 이를 규명할 필요가 있다. 한편, 질산화과정에서의 중간생성물인 hydroxylamine과 아질산의 화학적인 반응에 의해 아산화질소가 생성될 수 있는데, 하폐수 처리 과정에서 화학적으로 생성된 아산화질소의 양은 무시 가능할 정도로 소량이다 [13].

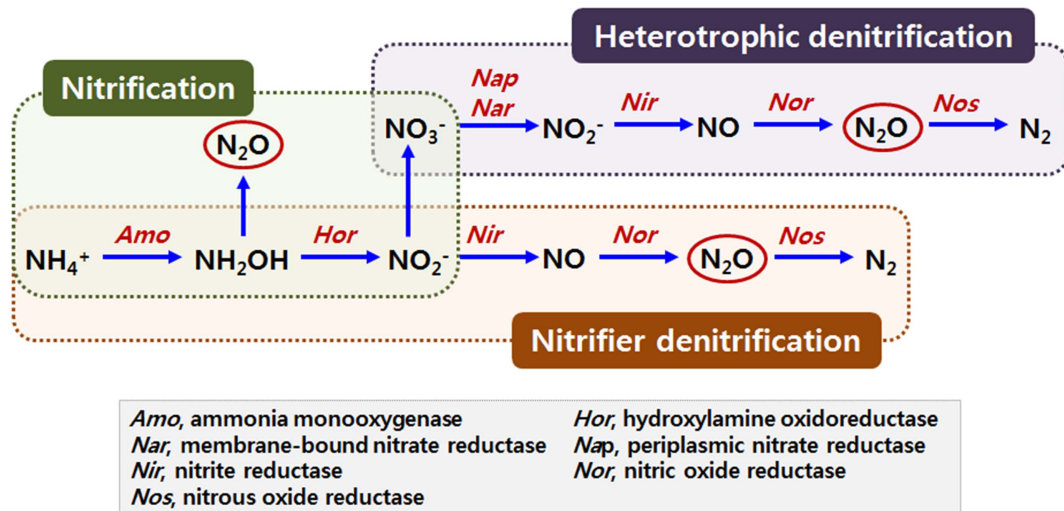


Fig. 1. Major pathways for biological N₂O generation during wastewater treatment.

아질산염은 nitrite reductase (*Nir*)와 nitric oxide reductase (*Nor*)에 의해 아산화질소로 전환된다(nitrifier denitrification pathway). 하폐수의 질소 제거 공정에서 nitrifier denitrification 과정은 그리 중요한 생물학적 공정은 아니나, 아산화질소 생성 경로로는 매우 중요한 공정이다[4, 9].

아산화질소는 중속영양 탈질공정의 주요 중간대사산물이다[4, 9]. 탈질공정의 첫 번째 단계는 질산염은 periplasmic nitrate reductase (*Nap*)와 membrane-bound nitrate reductase (*Nar*)에 의해 아질산염으로 환원되는 과정이다. 그 다음 아질산염은 nitrite reductase (*Nir*)와 nitric oxide reductase (*Nor*)에 의해 아산화질소로 전환된다(heterotrophic denitrification pathway).

하폐수 처리 공정에서 아산화질소 배출량

하폐수 처리과정에서 아산화질소의 배출량에 관해 실험실 규모, 파일럿 규모 및 실 규모 하폐수 처리공정을 대상으로 다양한 연구가 수행되었고, 이들 연구 결과로부터 도출된 아산화질소 배출량 정보가 총설 논문으로 소개되었다[4, 7]. 본 논문에서는 이들 총설 논문 결과를 종합하여, 질소 부하량에 대한 아산화질소 배출량을 실험실, 파일럿 및 실 규모 하폐수 처리공정에서 측정된 결과를 Fig. 2에 정리하였다[4, 7].

실험실 규모 하폐수 처리 공정에 관한 기존 연구 결과에 따르면, 질소 부하량의 0–95%가 아산화질소로 배출되었고, 아산화질소 평균 배출량은 질소 부하량의 7.5%, 중간값은 0.7%이었다. 실험실 규모 반응기에서 인공폐수를 호기-무산

소 연속회분식반응조(Sequencing Batch Reactor, SBR)에서 처리한 결과, 운전 초기에는 질소 부하량의 95%가 아산화질소로 배출되었으나, 시간이 경과함에 따라 아산화질소 배출량이 질소 부하량의 5% 수준으로 감소하였다[14]. 질산화와 탈질 활성슬러지 반응조에 실험수를 연속적으로 처리한 결과, 아산화질소 배출량은 질소 부하량은 0.2–4.5%이었는데, 메탄올을 첨가하여 COD/N 비율을 높이면 아산화질소 배출량이 감소하였다[15]. 고농도 폐수를 호기-무산소 SBR 활성슬러지 반응조에서 연속적으로 처리한 결과, 아산화질소 배출량은 질소 부하량의 0.5–20%이었는데, COD/N 비율이 감소할수록 아산화질소 배출량은 증가하였다[16]. 인공폐수를 혐기-무산소 활성슬러지 반응조에서 연속적으로 처리한 결과, 질소 부하량의 90%가 아산화질소로 배출되었는데, 이렇게 많은 아산화질소가 배출되는 이유는 아질산염이 고농도로 축적되었기 때문이었다[17].

Lemaire 등은 호기-무산소 SBR 활성슬러지 반응조에서 인공폐수를 처리한 결과, 질소 부하량의 50% 이상이 아산화질소로 배출되었다고 보고하였다[18]. 무산소-호기 활성슬러지 반응조에서 인공폐수를 처리한 결과, 아산화질소 배출량은 질소부하량의 1.3–2.3%이었다[19]. 탈질용 유동층 반응기(denitrifying fluidized bed bioreactor)에서 인공폐수를 처리한 실험에서, 생물막의 두께가 680 μm인 경우 아산화질소 배출량의 질소 부하량의 0.53%이었으나, 생물막의 두께가 230 μm인 경우에는 아산화질소 배출량이 1.57%로 증가하였다[20]. 이는 생물막이 두꺼울수록 탈질세균수가 많아지고 아산화질소의 확산이 제한되기 때문으로 추정되었다. Alcántara 등은 조류(*Chlorella vulgaris*)를 접종한 실험실 규모 반응조를 이용하여 생활하수를 처리한 결과, 질소 제거 효율은 80%이었고 질소 부하량의 0.005%가 아산화질소로 배출되었다[21].

파일럿 규모 하폐수 처리 공정 연구에서는 질소 부하량의 0.027–3.6%가 아산화질소로 배출되었고, 평균값은 1.34%, 중간값은 0.87%이었다(Fig. 2). Gabarro 등은 파일럿 규모 SBR에서 매립지 침출수를 처리하는 과정에서 질소 부하량의 3.6%가 아산화질소로 배출되었다고 보고하였다[22]. 호기-무산소 SBR에서 혐기성 소화폐수를 처리한 결과, 용존산소 1.5 mg/l인 조건에서 아세테이트를 탄소원으로 공급하면 질소 부하량의 0.24%가 아산화질소로 배출되었다[23]. 동일한 반응기를 이용하여 용존산소 0.95 mg/l, 탄소원으로 발효슬러지액을 공급하면 아산화질소 배출량이 질소 부하량의 1.49%로 증가하였다[23].

실 규모 하폐수 처리공정을 대상으로 조사한 아산화질소 배출량은 질소 부하량의 0–14.6%로, 평균값 1.95%이고 중간값은 0.20%이었다(Fig. 2). Czepiel 등은 활성슬러지 공법으로 하수를 처리하는 처리장에서 15주 동안 매주 1회 아산

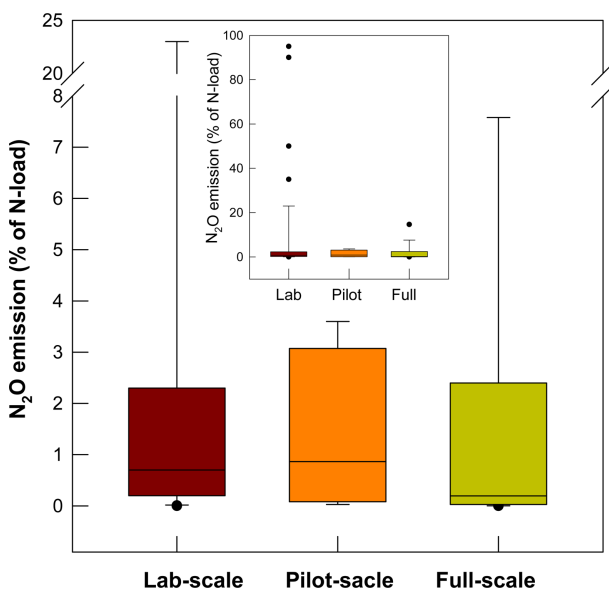


Fig. 2. N₂O emission (% of N-load) in lab-, pilot- and full-scale wastewater treatment processes.

화질소 배출농도를 측정된 결과, 질소 부하량의 0.035%가 아산화질소로 배출되는 것으로 보고하였다[24]. Wicht와 Beier는 활성슬러지 공법을 적용하고 있는 하폐수 처리장 25개소에서 아산화질소 배출량을 조사한 결과, 질소 부하량의 0-14.6% (평균 0.6%) 범위로 아산화질소가 배출되는 것으로 보고하였다[25]. Ahn 등은 미국 하폐수 처리장 12개소에서 공정 종류별로 아산화질소 배출량을 정량적으로 분석한 결과, 질소 부하량의 0.01-1.8%가 아산화질소로 배출되었다[26]. 그 외 활성슬러지법을 활용하는 하폐수 처리장의 아산화질소 배출량은 질소 부하량의 0.001-0.8%이었다[27-30]. 영국 Midlands 하수처리장(처리 대상 인구: 210,000명)의 질산화 공정에서 배출되는 아산화질소 농도를 8주일 동안 실측한 결과, 유입 질소 부하량의 0.036%(유입 암모니아성 질소 부하량의 0.04%에 해당)가 아산화질소로 배출되었다[31]. 이 하수처리장의 연간 아산화질소 배출량은 34,000 CO₂ equivalent/y로, 이 값은 이 하수처리장의 연간 온실가스 배출량의 13% 정도로 추정되었다[31]. 실 규모 SBR 공정에서 배출되는 아산화질소량의 질소 부하량의 2.7-6.8%이었다[32, 33]. 질산화공정에서 배출되는 아산화질소 배출량은 질소 부하량의 2-4% 수준이었다[34, 35].

하폐수 처리 공정별로 아산화질소 배출량에 대한 조사 결과는 그리 많지 않으나, Czepiel 등은 질산화와 탈질공정이 포함된 활성슬러지공정에서 90% 이상 배출되고, 스크린과 슬러지 저장탱크에서 각각 5%씩 아산화질소가 배출된다고 보고하였다[24]. Tallec 등은 하폐수 처리 공정별 아산화질소 배출을 조사한 결과, 배출된 아산화질소의 58-83%가 nitrifier denitrification에 의해, 42-17%가 종속영양 denitrification에 의해 배출되는 것으로 추정하였으나, 정확한 배출 기작과 배출량에 대한 정보가 부족하다[36].

한편, 실험실 규모 연구를 통해 하폐수 처리과정에서 제거된 질소량 대비 아산화질소 배출량 정보가 보고되고 있다[4].

현재까지 축적된 주요 결과를 Fig. 3에 도시하였는데[37-41], 질소 제거량의 0.14-50.7%가 아산화질소로 배출되었다(평균값 13.0%, 중간값 6.1%). SBR 공정에서 질소 제거량 대비 아산화질소 배출량에 영향을 미치는 암모니움 이온과 아질산염 농도 영향을 조사하였다[40]. 암모니움 이온과 아질산염 농도가 높을수록 아산화질소 배출량은 증가하였다. 또한, 용존산소 농도 제한이 높은 조건에서 질소 제거량의 2.5%가 아산화질소로 배출되었으나, 용존산소 농도 제한이 낮은 조건에서는 질소 제거량의 0.14-1.06%만이 아산화질소로 배출되어, 용존산소 농도가 주요 인자임을 보고하였다. Chen 등은 혐기-무산소 SBR 공정에서 질소 제거량의 6.9%가 아산화질소로 배출되었는데, 이 공정에서 종속영양 탈질세균의 활성을 극대화하기 위해 혐기조건을 없이 무산소 조건으로 SBR을 운전하면 아산화질소 배출량은 질소 제거량의 4.0%로 감소하였다[41].

우리나라의 경우, 도시로의 인구 증가 및 생활수준의 향상 등의 영향으로 하폐수 발생량과 오염 부하량이 증가하고 있으나, 생물학적 영양염류인 질소와 인의 과도한 유입으로 인해 부영양 현상이 초래되고 있다. 이에 많은 하폐수 처리장은 질소와 인을 제거할 수 있는 고도처리공법이 도입되어 있다. 환경부의 공공하수처리시설 운영관리실태 분석 보고서에 따르면, 12년말 기준 전국 500 m³/일 이상 공공하수처리 시설 중 고도처리공법이 도입되어 운영되고 있는 시설은 486 개소에 이르고 있다. 고도처리공법 중 가장 많이 적용되고 있는 공법은 SBR 공법(182개소, 37.5%)과 A₂O (Anaerobic/Anoxic/Oxic) 공법(123개소, 25.3%)이 가장 많이 차지하고 있으며, 그 외 담체, 미생물, 막공법 등이 도입되어 있다.

고도처리공법 확대 도입으로 수질은 많이 개선되었으나, 하폐수 1톤당 처리단가와 에너지 사용량이 증가하고 있으며, 특히 하폐수 처리과정에서 온실가스인 메탄과 아산화질소 배출량이 많아져 지구온난화에 대한 하폐수 처리공정의 기여도가 증대되고 있다. 따라서, 하폐수 처리공정에서 수처리 효율을 높여 수질 개선뿐 아니라, 온실가스 배출량 저감도 고려해야 한다. 한국환경관리공단에서는 하폐수 분야의 아산화질소 배출계수를 0.94-41.44 g N₂O/kg-TN으로 추정하고 있다. Yang 등은 하수 처리 공정별 아산화질소 배출계수를 산정한 결과, 5-stage (혐기조 - 1차 무산소조 - 1차 호기조 - 1차 무산소조 - 1차 호기조) 공정은 0.94 g-N₂O/kg-TN으로 가장 낮았으며, 활성슬러지공정이 2.65 g-N₂O/kg-TN, Denipho 공정이 9.30 g-N₂O/kg-TN, SBR 공정이 26.73 g-N₂O/kg-TN으로 가장 높았다[42]. 향후 추가적인 연구를 통해 국내 하폐수 처리공정에서 아산화질소 배출량과 생성과 소멸 기작에 대한 정성적 정량적 정보가 축적될 필요가 있다. 이렇게 축적된 정보는 국내 하폐수 처리 공정에서 아산화질소 배출을 최소화할 수 있는 설계 기준과 운전조건을 확

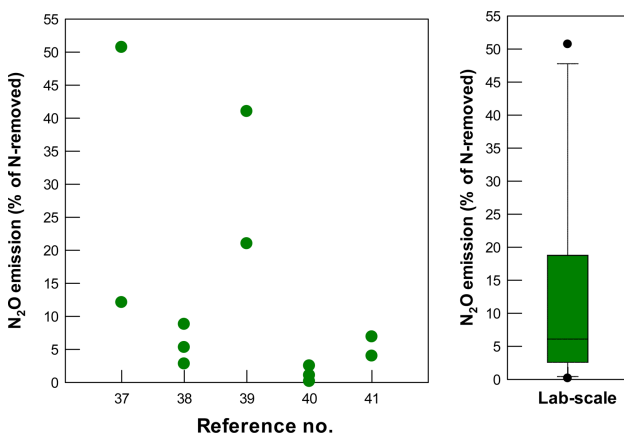


Fig. 3. N₂O emission (% of N-removed) in lab-scale wastewater treatment processes.

립하는데 유용하게 활용 가능하다.

하폐수 처리 공정에서 아산화질소 배출에 영향을 미치는 주요 인자

폐기물 하폐수 처리 과정에서 아산화질소 배출량의 편차가 크고 그 기작에 대해 미해결 문제가 많은 이유는 아산화질소 생성이 운전 조건과 환경 조건에 따라 크게 영향을 받기 때문이다. 하폐수 처리 과정에서 질소 제거에 중요한 공정인 질산화공정과 탈질공정에서 아산화질소 배출량에 영향을 미치는 주요인자는 탄소원 종류, 용존산소 농도, 아질산염농도, COD/N 및 기타 인자로 나눌 수 있다(Table 1). 질산화 공정과 탈질공정에 이들 주요인자가 아산화질소 배출량에 미치는 영향을 구체적으로 살펴보면 다음과 같다.

탄소원 종류

호기-무산소 SBR 활성슬러지 반응조에 메탄올과 같은 C₁ 화합물을 탄소원으로 공급하면 활성슬러지의 미생물 다양성이 낮아져 아산화질소 배출량이 질소 부하량의 50% 이상이었다[18]. 무산소-호기 활성슬러지 반응소에서 인공폐수를 처리하면서 아산화질소 배출량에 영향을 미치는 탄소원 종류의 영향을 조사한 결과, 메탄올을 탄소원으로 공급하면 질소 부하량의 2.3%가 아산화질소로 배출되었으나, 아세테이트를 공급하면 아산화질소 배출량이 1.3%로 감소하였다[19]. Zhu와 Chen은 탄소원으로 아세트산과 슬러지 발효액을 각각 공급한 SBR의 아산화질소 배출량을 비교하였다[37]. 그 결과, 아세트산을 공급한 조건보다(질소 제거량의 50.7%가 아산화질소로 배출), 슬러지 발효액을 공급한 조건에서 아산화질소 배출량이 감소하였다(질소 제거량의 12.1%가 아산화질소로 배출). 이러한 결과는 슬러지 발효액에 의해 아산화질소를

질소로 환원시키는 세균의 수가 증가했기 때문으로 보고하였다. Hu 등은 무산소-호기 SBR 반응조에서 인공폐수를 처리하면서 탄소원의 종류(sodium acetate, glucose, 수용성 starch)에 따라 질소 처리효율과 아산화질소의 배출량의 차이를 비교하였다[38]. Sodium acetate를 탄소원으로 공급한 경우 질소 처리효율은 가장 좋았으나, 아산화질소 배출량은 질소 제거량의 8.8%로 가장 높았다. 탄소원으로 수용성 starch를 공급한 조건에서는 질소 제거량의 2.8%가, glucose를 공급한 조건에서는 5.3%가 아산화질소로 배출되었다. 한편, Zhang 등은 탄소원으로 아세트산을 공급하면 질소 제거량의 41%가 아산화질소로 배출되었는데, 이를 mannitol로 변경하면 아산화질소 배출량이 질소 제거량의 21%로 감소한다고 보고하였다[39].

용존산소 농도

질산화 공정에서 용존산소 농도는 아산화질소 배출을 제어하는 매우 중요한 인자로, 용존산소 농도가 낮으면 아산화질소 배출량이 증가하였다[36, 43]. 용존산소 농도가 낮으면 암모니아 산화세균은 최종전자수용체로 산소 대신 아질산염을 이용하는데, 이를 통해 산소 소비량을 줄여 암모니움 이온을 hydroxylamine으로 산화하는데 필요한 산소로 이용한다[43]. 또한, 용존산소 농도가 낮으면 질산화 반응조 내부에서 국부적으로 산소 부족 현상을 일으켜 결과적으로 아산화질소 배출량이 증가할 수 있다. 용존산소 농도가 1 mg/l 이하인 경우 질소 부하량의 약 10%가 아산화질소로 배출되었다[44]. Pijuan 등은 파일럿 규모의 에어리프트 반응기를 이용하여 질산화 과정에서 아산화질소 배출량에 미치는 용존산소 농도를 조사하였다[45]. 그 결과, 용존산소 농도가 1.1~4.5 mg/l인 조건에서는 산화된 질소량의 2.2~6.1%가 아산화질소로 배출되었으나, 용존산소 농도를 4.5~7.5 mg/l로 증가

Table 1. Main N₂O emission factors in wastewater treatment processes.

Process	Factor	Operation condition
Nitrification	Low DO (dissolved oxygen) concentration	Insufficient aeration
		High organic loading
	High nitrite concentration	Insufficient aeration
		Low SRT (solid retention time)
		Existence of toxic compounds
Denitrification	High DO concentration	Low temperature
		High ammonium concentration
	High nitrite concentration	Over aeration in nitrifying process
		Carbon source limitation
	Low COD/N ratio	Nitrite transfer from nitrifying process
		Influent property
		Too efficient pre-sedimentation

시키면 아산화질소 배출량이 2.2% 수준으로 감소하였다[45]. 한편, 용존산소를 공급하기 위해 포기시 공기유량을 너무 높이면 용존상태로 존재하는 아산화질소가 기상으로 배출되는 에어스트리핑 현상이 생길 수 있으므로[34], 용존산소가 부족하지 않을 정도로 공기유량을 최소화하는 것이 중요하다.

탈질 공정에서는 용존산소는 탈질 효소의 합성과 활성을 저해하는데, 특히 아산화질소 환원효소는 다른 효소에 비해 산소에 더욱 더 민감하기 때문에 탈질 반응조의 용존산소 농도가 높으면 아산화질소 배출량이 증가하였다[7, 46]. 질산화 반응조에 포기를 지나치게 많이 하면 다음 공정인 탈질 반응조에 용존산소 농도가 높아져 아산화질소 배출이 증가할 수 있다.

그런데, 지금까지 실 규모 질산화공정에서 용존산소와 아산화질소 배출량과의 상관성 연구는 단기간 측정된 결과가 대부분이므로[34, 43, 45, 47-49], 향후 장기간에 걸친 연구를 통해 용존산소 농도가 아산화질소 배출에 미치는 영향을 보다 명확하게 파악할 필요가 있다.

아질산염 농도

많은 연구자들이 질산화와 탈질공정에서 아질산 농도가 높으면 아산화질소의 배출이 증가한다고 보고하고 있다[4, 7]. 특히 탈질공정에서 아질산 농도가 높아지면 탈질속도가 감소하면서 산화질소와 아산화질소 배출량이 증가하였다[7]. 질산화 공정에서 아질산염 농도가 증가하는 원인은 포기가 불충분하여 용존산소가 부족하거나, 고히물체류시간이 너무 짧거나, 아질산염을 질산염으로 산화시키는 아질산염 산화세균의 활성에 영향을 미치는 독성물질이 존재하거나, 온도가 낮거나 유입수의 높은 암모니움 이온 농도 등이다. 한편, 탈질 공정에서 아질산염의 농도가 높아지는 것은 탈질에 필요한 탄소원이 부족하거나 질산화 반응조로부터 탈질 반응조로 유입되는 유입수의 아질산염의 농도가 높은 것이 원인으로 고려되고 있다. 한편, 아산화질소 배출에 영향을 미치는 아질산의 영향은 용존산소 농도에 따라 상이하게 나타나는데, 아질산 농도가 10 mg/l 증가하면 용존산소 농도에 따라 아산화질소 배출량이 4배에서 8배까지 증가하였다[36].

COD/N 비

탈질 반응조에서는 유기물을 탄소원으로 이용하는 종속영양 탈질 세균에 의해 질산염이 질소로 환원된다. 따라서, 이러한 종속영양 탈질 세균이 이용할 수 있는 탄소원이 부족하게 되면 아산화질소 배출량이 증가하였다[4, 7]. Hanaki 등은 아산화질소 배출에 영향을 미치는 COD/N 비율(1.5-4.5)의 영향을 조사한 결과, COD/N 비율이 작아질수록 아산화질소 배출량이 증가하였다[50]. COD/N 비율이 3.5보다 작으면 질소부하량의 32-64%가 아산화질소로 배출되었다는

결과와[51], COD/N 비율이 10을 초과하게 되면 반대로 아산화질소 배출량이 증가하였다는 결과가 보고되고 있다[12].

기타 인자

용존산소 농도, 아질산염 농도 COD/N 비가 하폐수 처리 과정에서 아산화질소 배출량에 미치는 주요 인자이지만, 이외에 pH도 아산화질소 배출량에 영향을 미친다. 질산화 반응조의 pH가 8.5 이상이면 아산화질소의 배출량이 증가하고, 탈질 반응조의 pH가 6.8보다 낮으면 아산화질소가 검출되었다[52]. 또한, 탈질 반응조의 pH가 8.5에서 6.5로 떨어지게 되면 아산화질소가 검출되기 시작하였다[50]. 그런데 일반적으로 하폐수 처리 반응조의 pH는 7-8 사이이므로, 하폐수 처리 공정에서 아산화질소의 배출에 미치는 pH의 영향은 매우 적을 것으로 보고되고 있다.

하폐수 처리공정에서 아산화질소 배출에 영향을 미치는 간접적 인자로는 포기 강도, 유기물 부하량, 고히물 체류시간, 독성물질 농도, 온도, 암모늄 농도, 염도, 폐수성상 등이 있다[7]. 포기 강도가 높으면 용존상태의 아산화질소가 가스상 아산화질소로 스트리핑 될 수 있다. 또한, 고히물 체류시간이 짧을수록, 염농도가 높을수록, 암모늄 농도가 높을수록, 온도가 낮을수록, 황화물과 같은 독성물질의 농도가 높을수록 아산화질소 배출량이 증가하는 것으로 보고되고 있다. 향후 아산화질소 배출에 미치는 이러한 간접적 인자들의 영향을 보다 자세하고 정량적으로 해석하고, 인자와 인자 사이의 상호관련성에 대한 평가에 대한 연구들이 수행될 필요가 있다.

하폐수 처리 공정에서 아산화질소 배출 저감 방법

하폐수 처리 과정에서 아산화질소 배출을 최소화하기 위해서는 온도, pH, 염농도, 용존산소 농도, 아질산염 농도, COD/N 비율 등 환경인자와 운전인자를 관리하고 최적화하는 것이 중요하다[4, 53-55]. 그런데 Leix 등은 실험적 디자인 모델링을 통해 질소 제거와 아산화질소 배출에 영향을 미치는 pH, 부하 및 포기 조건의 영향을 시뮬레이션한 결과, 질소 제거능과 아산화질소 배출은 약한 양의 상관관계를 가지므로, 질소 제거효율을 극대화하면서 아산화질소 배출을 최소화할 수 있는 최적 조건은 찾을 수가 없었다[55].

최근에는 하폐수 처리과정에서 환경 및 운전인자 조건에 따라 아산화질소 생성과 소멸 기작에 관여하는 유전자 거동을 정량적 및 정성적으로 모니터링하여, 하폐수 처리과정에서 아산화질소를 포함한 질소화합물 거동을 미생물학적으로 해석을 통해 얻은 정보로부터 아산화질소 배출 저감 전략을 도출하고자 하는 노력이 진행되고 있다. 질소화합물 거동, 아산화질소 생성과 소멸에 관여하는 유전자 및 이들 유전자를 검출하기 위해 사용되는 primer 종류를 Table 2에 정리하였

Table 2. Reported primers targeting nitrify- and denitrify-genes.

Target gene	Related enzyme	Primer name	Nucleotide sequence (5' → 3')	Reference
<i>amoA</i> (b-AOB)	ammonia monooxygenase in bacteria	amoA-1F amoA-2R	GGGGTTTCTACTGGTGTT CCCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	[56]
<i>amoA</i> (a-AOA)	ammonia monooxygenase in archaea	Arch-amoAF Arch-amoAR	STAATGGTCTGGCTTAGACG GCGGCCATCCATCTGTATGT	[57]
		Crenamo A23F Crenamo A616R	ATGGTCTGGCTWAGACG GCCATCCATCTGTATGTCCA	[58]
<i>hao</i>	Hydroxylamine oxidoreductase	haoF1 haoR3 haoF4 haoR2	TGCGTGGARTGYCAC AGRTARGAKYSGGCAAA AACTKCGCTCRATGGG GGTTGGTYTTCTGKCCGG	[59]
<i>narG</i>	subunit G of membrane bound nitrate reductase	narG-F narG-R	TCGCCSATYCCGGCSATGTC GAGTTGTACCAGTCRGC SGAYTCSG	[60]
		narG1960m2f narG2050m2r	TA(CT)GT(GC)GGGCAGGA(AG)AAA CGTAGAAGAAGCTGGTGCTGTT	[61]
<i>napA</i>	subunit A of periplasmic nitrate reductase	V17m napA4r	TGGACVATGGGYTTYAAYC ACYTCRCGHGCVGTRCCRCA	[60]
<i>nxrA</i>	Nitrite oxidoreductase alpha subunit	norB1Fq norB1Rq	ACACAAATCACTGCCGCCCA TGCAGTACACCGCAAAGGT	[62]
<i>nirK</i>	copper-type nitrite reductase	nirK1F nirK5R	GGMATGGTKCCSTGGCA GCCTCGATCAGRTTRTGG	[63]
		nirK876 nirK1040	ATYGGCGVAYGGCGA GCCTCGATCAGRTTRTGGTT	[64]
		nirKFlaCu nirKR3Cu	ATCATGGT(C/G)CTGCCGCG GCCTCGATCAG(A/G)TTGTGGTT	[61]
<i>nirS</i>	cytochrome cd ₁ nitrite reductase	nirS1F nirS6R	CCTAYTGGCCGCCRCART CGTTGAACTTRCCGGT	[63]
		nircd3aF nirR3cd	GTSAACTSAAGGARACSGG GASTTCGGRTGSGTCTTGA	[61]
<i>norB</i>	subunit B of nitric oxide reductase	cnorB-2F cnorB-6R	GACAAGNNNTACTGGTGTT GAANCCCCANACNCCNGC	[65]
<i>cnorB</i>	cytochrome c nitric oxide reductase	cnorBF cnorBR	GACAAGNNNTACTGGTGTT GAANCCCCANACNCCNGC	[66]
		cnorB Z1F cnorB Z1R	CGTCGGTCAGATCCTCTTCG GCGATGATCACGTAGAGCCA	[67]
<i>qnorB</i>	quinol nitric oxide reductase	qnorBF qnorBR	GGNCAYCARGGNTAYGA ACCCANAGRTGNACNACCCACCA	[66]
<i>nosZ</i>	subunit Z of nitrous oxide reductase	nosZ2F nosZ2R	CGCRACGGCAASAAGGTSMSSTG CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA	[68]
		nosZF nosZR	CGCTGTTCTCGACAGYCAG ATGTGCAKIGCRTGGCAGAA	[69]
		nosLb nosRb	CCCGCTGCACACC(A/G)CCTTCGA CGTCGCC(C/G)GAGATGTGCATCA	[61]

다[56–69].

Castellano-Hinojosa 등은 스페인을 실규모 하수처리장 4 곳을 대상으로 암모니아 산화세균, 암모니아 산화고세균 및

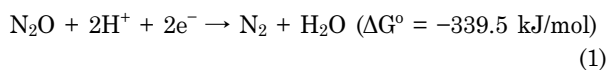
아산화질소 환원 탈질세균의 바이오매스를 qPCR 방법에 의해 정량적으로 분석한 후, 아산화질소 배출량과의 상관성을 조사하였다[70]. 그 결과, 아산화질소 배출량은 암모니아 산

화고세균($r = -0.90$) 및 아산화질소 환원 탈질세균($r = -0.64$)과는 음의 상관관계를 보였으나, 암모니아 산화세균의 바이오매스로 양의 상관관계($r = 0.91$)를 보였다. 이러한 결과로부터 실규모 하수처리장에서는 질산화세균에 의한 탈질반응에 의해 아산화질소가 많이 생성되므로, 이 반응을 억제시키기 위해 아산화질소의 축적 및 무산화조건에서 용존산소농도가 과잉으로 되지 않도록 운전전략을 도입하는 것이 중요하다는 것을 알 수 있었다.

Zheng 등은 폐수 처리용 파일롯 규모의 산화지에서 아질산염 축적을 최소화하는 조건으로 운전한 결과, 질소 부하량의 0.027% 수준으로 아산화질소의 배출량을 최소화할 수 있었다[71]. 16S rRNA gene 염기서열 분석을 통해 미생물 군집을 분석한 결과, *Nitrospirae* 등과 같은 아질산염 산화세균과, *Rhodocyclales* 및 *Burkholderiales* 등과 같은 탈질세균이 높은 우점율을 보였다. 이러한 결과는 아질산염 산화세균이 성장하기 유리한 조건 형성을 통해 질산화과정에서 아질산염 축적을 최소화할 수 있었고, 탈질세균을 활성화시켜 아산화질소 배출량을 최소화하면서 탈질반응이 진행됨을 시사하였다[71].

Song 등은 실규모 plug-flow 활성슬러지 반응조에서 아산화질소 배출량에 영향을 미치는 폐수의 수리학적 체류시간(HRT)의 영향을 조사하여 HRT가 약 4시간이 조건보다 5시간인 조건에서 아산화질소 배출량이 적음을 보고하였다[72]. 각 조건별 아산화질소 환원세균을 분석한 결과, HRT가 짧은 조건에서는 *Mesorhizobium* 만이 검출되었는데, HRT가 긴 조건에서는 *Rhodobacter*, *Oligotropha* 및 *Shinella* 등과 같은 다양한 종류의 아산화질소 환원세균이 검출되었다. 일반적으로 종다양성이 증가하면 환경변화 등의 변화에 대해 저항성과 탄력성이 증가하여 생물공정의 성능이 안정적으로 유지되는 것으로 알려져 있다[73]. HRT를 길게 하면 아산화질소 환원에 관여하는 세균 종류의 다양성이 높아져서 아산화질소가 질소로 환원되는 효율이 안정적으로 유지되었기 때문에, 아산화질소 배출량을 감소시킬 수 있는 것으로 해석된다.

적극적으로 아산화질소 배출을 저감 할 수 있는 방법 중의 하나는 아산화질소를 질소로 환원시키는 주요 효소인 아산화질소 환원효소(nitrous oxide reductase)를 가지고 있는 미생물의 바이오매스를 증가시키거나 효소 활성을 높이는 방법이 있다[74, 75]. 아산화질소 환원효소는 탈질반응의 마지막 단계에서 식 (1)의 반응으로 아산화질소를 질소가스로 전환시키며[76], *nosZ* 유전자를 가진 nitrous oxide reductase [77]와 *cnosZ* 유전자를 가진 cytochrome c nitrous oxide reductase [78]가 보고되고 있다.



SBR 반응조에서 혐기성 조건을 없애고 호기-무산소-호기-무산소-호기-침전 순서로 운전한 후 무가동 시간(idle phase)을 증가시키는 운전 방식을 통해 질소와 인의 제거효율을 그대로 유지하면서 아산화질소 배출량을 42%까지 감소시킬 수 있었다[41]. 기존의 공정에 비해, 혐기성 조건을 없앤 이 공정에서 아산화질소를 질소로 환원하는 유전자인 *nosZ* 유전자의 양이 약 4배 정도 증가되었음을 정량 PCR (quantitative PCR, qPCR) 분석을 통해 확인할 수 있었다. 즉, 이러한 SBR 운전 조건 변경을 통해, 아산화질소 환원세균의 바이오매스를 증가시켜 아산화질소 배출량을 저감시킬 수 있다는 것을 알 수 있었다[41].

스페인의 하수처리장에서 채취한 고도처리용 활성슬러지를 대상으로, 아산화질소 환원반응에 미치는 산소 농도의 영향을 조사한 결과, 산소농도 2%까지 아산화질소가 질소로 환원되는 반응이 저해를 받지 않았고, 산소 농도가 2%인 조건에서 *Dokdonella* sp.가 우점종으로 검출되었다[79]. 이 결과는 이러한 균주를 활용한다면 산소가 저농도가 포함된 조건에서도 효율적으로 아산화질소를 질소로 제거 가능한 공정 설계가 가능함을 시사한다.

Zheng 등은 매립지 침출수 처리용 생물여과장치에서 아산화질소를 환원할 수 있는 *Pseudomonas stutzeri* PCN-1을 분리하였다[67]. 이 균주는 호기성 탈질세균으로 아산화질소 환원에 관여하는 *nirS* (cytochrome cd1 nitrite reductase), *cnorB* (NO reductase) 및 *nosZ* (N₂O reductase) 유전자를 이용하여 아산화질소를 환원시킬 수 있는 것으로 확인되었다. 기존 활성슬러지에 *Pseudomonas stutzeri* PCN-1을 접종한다면 질소 처리 공정에서 아산화질소 배출량을 저감 가능할 것이다.

링 모양의 polyethylene 담체를 사용한 고정상 탈질 생물반응기와 폐수처리반응기를 연계하여 운전하는 바이오스크러버(bioscrubber)를 이용하여 폐수처리와 동시에 아산화질소를 동시에 저감할 수 있는 기술이 Frutos 등에 의해 제안되었다[80]. 이 방법은 아산화질소가 포함된 폐가스를 고정상 탈질 생물반응기에 공급하여 아산화질소를 질소로 환원시켜 처리하고, 용존 아산화질소는 폐수처리 반응기에서 유기물 분해과 함께 탈질시켜 처리하고, 이 폐수처리 반응기에서 처리된 폐수를 다시 고정상 생물반응기로 순환시켜 처리하는 것이다. 고정상 생물반응기에서 가스체류시간이 3분인 경우에는 아산화질소 제거효율이 36%이었으나, 가스체류시간을 40분으로 증가시키면 아산화질소 제거효율이 92%로 향상되었다. DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 방법에 의해 고정상 생물반응기의 세균군집을 조사한 결과, 종다양성 지수가 초기 1.5에서 3.5로 증가하였고, 아산화질소를 질소로 환원할 수 있는 다양한 종류의 탈질세균이 우점화되어 있음이 확인되었다.

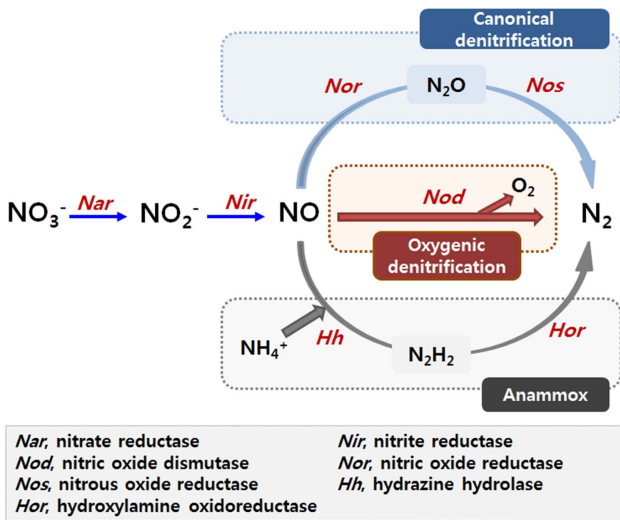


Fig. 4. Biological nitrogen removal pathways (Modified from [82]).

종래의 혐기성 종속영양 탈질반응 대신 혐기성 독립영양 탈질(Anammox) 공법을 활용하여 아산화질소 배출량을 저감시킬 수 있다[81]. 또한, 최근에는 탈질공정에서 산소가 생성되는 산소 발생 탈질반응(oxygenic denitrification)이 새로운 질소처리공정으로 제안되고 있다[82, 83]. 산소 발생 탈질반응은 메탄을 비롯하여 알칸화합물을 전자공여체로 이용되고, 질산염 혹은 아질산염이 전자수용체로 이용되기 때문에 아산화질소를 거의 배출하고 않으므로(Fig. 4), 아산화질소 배출을 최소화하면서 폐수를 고도처리할 수 있는 유망한 기술로 주목되고 있다[83]. 산소 발생 탈질반응을 할 수 있는 미생물은 3종이 보고되고 있다. *Methylomirabilis*로 추정되고 있는 균주는 메탄과 아질산염을 각각 전자공여체와 전자수용체로 이용한다[82, 84]. *Gammaproteobacterium*에 속하는 HdN1 균주는 C₆-C₃₀ alkane 화합물을 전자공여체로 이용하고, 질산염, 아질산염 및 산소를 전자수용체로 이용한다[85, 86]. *Dechloromonas aromatica* RCB 균주는 benzene을 전자공여체로, 질산염, 염소산염 및 산소를 전자수용체로 이용하는 것으로 보고되고 있다[87, 88].

결 론

기후변화 제 21 차 파리 기후변화협약 당사국총회(COP21)에서 신기후변화체제인 파리협정(Paris agreement)이 채택되었다. 파리협정에 참여한 195개국의 온실가스 배출량이 전세계 배출량의 약 90%에 이르는 점에서 신기후변화체제는 기존의 코토의정서보다 진일보한 체제로 평가를 받고 있다. 파리협정은 각 국가가 국가별 기여방안을 스스로 정하여 매 5년마다 상향된 감축 목표를 제출하도록 하고, 국가 온실가

스 인벤토리, 감축목표 달성 경과 등을 의무적으로 보고하도록 규정하고 있으며, 5년 단위로 파리협정 이행 전반에 대한 국제사회 공동 차원의 종합적인 이행점검(global stocktaking)을 통해 신기후체제의 지속적인 발전 및 투명성을 제고할 계획이다. 따라서, 전지구적으로 이산화탄소 뿐 아니라 아산화질소와 같은 Non-CO₂ 온실가스 배출 저감이 매우 중요하게 되었다.

또한, 안전하고 쾌적한 삶의 질에 대한 요구와 깨끗하고 건강한 수환경 보호 및 유지의 필요성이 높아짐에 따라 부영양화를 초래하는 질소와 인을 제거한 공공수역에 방류하는 고도처리시설 도입의 필요성이 확대되고 있다. 웰빙을 위한 환경권, 수환경과 수질 관련 법규 및 기준의 강화, 온실가스 배출권 할당 및 거래에 대한 법률 시행 등 법/제도적 이슈 및 정책 변화 등으로 인해, 하폐수 처리 분야에서 온실가스 배출을 최소화하면서 영양염류를 효율적으로 처리할 수 있는 기후변화대응 고도처리기술 개발에 대한 경쟁이 전세계적으로 시작되었다. 이와같이 온실가스 배출 저감형 하폐수 처리기술에 대한 수요가 급증하고 있어 관련 기술은 신흥 환경산업으로 성장할 것으로 전망되고 있다.

따라서, 하폐수 고도처리 중 질산화와 탈질 과정에서 아산화질소 생성 기작을 파악하기 위해 운전인자와 환경조건이 아산화질소 생성에 미치는 영향에 대한 보다 정량적이고 체계적인 연구가 필요하다. 예를 들면, COD 제한 조건에서 탈질이 일어나는 동안 아산화질소가 어떤 기작을 통해 축적이 되는지, 아산화질소 배출에 대한 질산화 과정과 탈질 과정의 각각의 기여율, 특히 운전 및 환경인자 조건에 따라 기여율이 차이가 있을 수 있으므로 각 운전 및 환경조건별 각각의 기여율 규명, 아산화질소 배출을 감소시킬 수 있는 시스템의 초기 구현 조건과 운전 조건 등에 대한 연구가 필요하다. 고도처리공정의 아산화질소 생성 기작을 파악하기 위해서는 운전인자와 환경조건이 아산화질소 생성에 미치는 영향을 규명함과 동시에 이 기작에 관여하는 미생물 군집 조성과 거동을 동시에 파악할 필요가 있다. 또한, 하폐수 처리공정에서 질소화합물의 거동 및 이에 관련된 기능성 유전자의 정성적·정량적 분석을 통한 미생물 생태 및 생리학적 이해가 필요하다.

요 약

아산화질소(N₂O)는 기후변화를 야기하는 온실가스임과 동시에 오존층을 파괴하는 가스이다. 하폐수 처리시 생물학적 질소 제거 공정에서 주로 배출되는 아산화질소가 환경에 미치는 영향은 매우 중요하므로 대책 수립이 필요하다. 본 논문에서는 하폐수 처리과정의 아산화질소 배출 관련 최신 연구동향을 종합적으로 고찰함으로써, 아산화질소의 배출량 및

생성에 미치는 주요 인자의 영향을 이해하고, 아산화질소 배출 저감 전략 수립에 필요한 정보를 도출하였다. 하폐수 처리공정에서 아산화질소가 배출되는 주요 경로는 hydroxylamine 산화, nitrifier 탈질 및 중속영양 탈질공정의 3가지로 구분된다. 실험실, 파일럿 및 실 규모 하폐수 처리 공정을 대상으로 아산화질소 배출량을 측정된 결과 아산화질소 배출량의 질소 부하량의 0-95%로 변이가 매우 컸다. 실 규모 하폐수 처리공정에서는 질소 부하량의 0-14.6%가 아산화질소로 배출되고, 평균값과 중간값은 각각 1.95%와 0.2%이었다. 아산화질소 배출량에 영향을 미치는 가장 중요한 운전인자는 용존산소와 아질산염 농도 및 COD/N 비율이었다. 아산화질소 배출 저감을 위해 운전인자를 조절하는 다양한 전략이 보고되고 있다. 또한, 하폐수 처리공정에서 아산화질소 배출 저감하기 위한 새로운 전략으로, 높은 아산화질소 환원효소 활성을 가진 미생물을 활용하거나, 기존의 탈질공정 대신 산소 발생 탈질공정(oxygenic denitrification)을 도입하는 것이 제안되고 있다.

Acknowledgments

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science and ICT (NRF-2016R1A2B4015007).

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- Prather MJ, Hsu J, DeLuca NM, Jackman CH, Oman LD, Douglass AR, et al. 2015. Measuring and modeling the lifetime of nitrous oxide including its variability. *J. Geophys. Res. Atmos.* **120**: 5693-5705.
- IPCC. 2014. Climate change 2014: mitigation of climate change. In Edenhofer O, Pichs-Madruga R, Sokona Y, Farahani E, Kadner S, Seyboth K, Adler A, Baum I, Brunner S, Eickemeier P, Kriemann B, Savolainen J, Schlömer S, von Stechow C, Zwickel T, Minx JC (eds.), *Contribution of working group III to the fifth assessment*. Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.
- Portmann RW, Daniel JS, Ravishankara, AR. 2012. Stratospheric ozone depletion due to nitrous oxide: influences of other gases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **367**: 1256-1264.
- Massara TM, Malamis S, Guisasola A, Baeza JA, Noutsopoulos C, Katsou E. 2017. A review on nitrous oxide (N₂O) emissions during biological nutrient removal from municipal wastewater and sludge reject water. *Sci. Total Environ.* **596-597**: 106-123.
- Duan H, Ye L, Erler D, Ni BJ, Yuan Z. 2017. Quantifying nitrous oxide production pathways in wastewater treatment systems using isotope technology - A critical review. *Water Res.* **122**: 96-113.
- Frijns J, Roorda J, Mulder M. 2008. Op weg naar een klimaat-neutrale waterketen. *H₂O* **41**: 36-37.
- Kampschreur MJ, Temmink H, Kleerebezem R, Jetten MSM, van Loosdrecht MCM. 2009. Nitrous oxide emission during wastewater treatment. *Water Res.* **43**: 4093-4103.
- Wunderlin P, Lehmann MF, Siegrist H, Tuzson B, Joss A, Emmenegger L, et al. 2013. Isotope signatures of N₂O in a mixed microbial population system: constraints on N₂O producing pathways in wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* **47**: 1339-1348.
- Ni BJ, Yuan Z. 2015. Recent advances in mathematical modeling of nitrous oxides emissions from wastewater treatment processes. *Water Res.* **87**: 336-346.
- Konneke M, Bernhard AE, de la Torre JR, Walker Christopher B, Waterbury JB, Stahl DA. 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* **437**: 543-546.
- Park HD, Wells GF, Bae H, Criddle CS, Francis CA. 2006. Occurrence of ammonia-oxidizing Archaea in wastewater treatment plant bioreactors. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 5643-5647.
- van Niel EWJ, Arts PAM, Wesselink BJ, Robertson LA, Kuenen JG. 1993. Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.* **102**: 109-118.
- Schreiber F, Wunderlin P, Udert KM, Wells GF. 2012. Nitric oxide and nitrous oxide turnover in natural and engineered microbial communities: Biological pathways, chemical reactions, and novel technologies. *Front. Microbiol.* **3**: 1-24.
- van Benthum WAJ, Garrido JM, Mathijssen JPM, Sunde J, van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ. 1998. Nitrogen removal in intermittently aerated biofilm airlift reactor. *J. Environ. Eng.* **124**: 239-248.
- Park KY, Inamori Y, Mizuochi M, Ahn KH. 2000. Emission and control of nitrous oxide from a biological wastewater treatment system with intermittent aeration. *J. Biosci. Bioeng.* **90**: 247-252.
- Itokawa H, Hanaki K, Matsuo T. 2001. Nitrous oxide production in high-loading biological nitrogen removal process under low COD/N ratio condition. *Water Res.* **35**: 657-664.
- Zeng RJ, Yuan Z, Keller J. 2003. Enrichment of denitrifying glycogen-accumulating organisms in anaerobic/anoxic activated sludge system. *Biotechnol. Bioeng.* **81**: 397-404.
- Lemaire R, Meyer R, Taske A, Crocetti GR, Keller J, Yuan Z. 2006. Identifying causes for N₂O accumulation in a lab-scale sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal. *J. Biotechnol.* **122**: 62-72.
- Song K, Harper WF, Hori T, Riya S, Hosomi M, Terada A. 2015. Impact of carbon sources on nitrous oxide emission and microbial community structure in an anoxic/oxic activated sludge system. *Clean Techn. Environ. Policy* **17**: 2375-2385.

20. Eldyasti A, Nakhla G, Zhu J. 2014. Influence of biofilm thickness on nitrous oxide (N₂O) emissions from denitrifying fluidized bed bioreactors (DFBBRs). *J. Biotechnol.* **192**: 281-290.
21. Alcántara C, Munoz R, Norvill Z, Plouviez M, Guieysse B. 2015. Nitrous oxide emissions from high rate algal ponds treating domestic wastewater. *Bioresour. Technol.* **177**: 110-117.
22. Gabarro J, González-Carcamo P, Ruscalleda M, Ganigue R, Gich F, Balaguer MD, et al. 2014. Anoxic phases are the main N₂O contributor in partial nitrification reactors treating high nitrogen loads with alternate aeration. *Bioresour. Technol.* **163**: 92-99.
23. Frison N, Chiumenti A, Katsou E, Malamis S, Bolzonella D, Fatone F. 2015. Mitigating off-gas emissions in the biological nitrogen removal via nitrite process treating anaerobic effluents. *J. Clean Prod.* **93**: 126-133.
24. Czepiel P, Crill P, Harriss R. 1995. Nitrous oxide emissions from municipal wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* **29**: 2352-2356.
25. Wicht H, Beier M. 1995. N₂O emission aus nitrifizierenden und denitrifizierenden Kläranlagen. *Korrespondenz Abwasser* **42**: 404-406.
26. Ahn JH, Kim S, Park H, Rahm B, Pagilla K, Chandran K. 2010. N₂O emissions from activated sludge processes, 2008-2009: Results of a national monitoring survey in the United States. *Environ. Sci. Technol.* **44**: 4505-4511.
27. Sommer J, Ciplak A, Sümer E, Benckiser G, Ottow JCG. 1998. Quantification of emitted and retained N₂O in a municipal wastewater treatment plant with activated sludge and nitrification-denitrification units. *Agrobiol. Res.* **51**: 59-73.
28. Kimochi Y, Inamori Y, Mizuochi M, Xu KQ, Matsumura M. 1998. Nitrogen removal and N₂O emission in a full-scale domestic wastewater treatment plant with intermittent aeration. *J. Ferment. Bioeng.* **86**: 202-206.
29. de Mello WZ, Ribeiro RP, Brotto AC, Kligerman DC, Piccoli AdeS, Oliveira JLM. 2013. Nitrous oxide emissions from an intermittent aeration activated sludge system of an urban wastewater treatment plant. *Quím. Nova* **36**: 16-20.
30. Tumendelger A, Toyoda S, Yoshida N. 2014. Isotopic analysis of N₂O produced in a conventional wastewater treatment system operated under different aeration conditions. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **28**: 1883-1892.
31. Aboobakar A, Cartmell E, Stephenson T, Jones M, Vale P, Dotro G. 2013. Nitrous oxide emissions and dissolved oxygen profiling in a full-scale nitrifying activated sludge treatment plant. *Water Res.* **47**: 524-534.
32. Sun S, Bao Z, Sun D. 2014. Study on emission characteristics and reduction strategy of nitrous oxide during wastewater treatment by different processes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**: 4222-4229.
33. Rodriguez-Caballero A, Aymerich I, Marques R, Poch M, Pijuan M. 2015. Minimizing N₂O emissions and carbon footprint on a full-scale activated sludge sequencing batch reactor. *Water Res.* **71**: 1-10.
34. Kampschreur MJ, van der Star W, Wielders H, Mulder JW, Jetten M, van Loosdrecht M. 2008. Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. *Water Res.* **42**: 812-826.
35. Castro-Barros C, Daelman M, Mampaey K, van Loosdrecht M, Volcke E. 2015. Effect of aeration regime on N₂O emission from partial nitrification-anammox in a full-scale granular sludge reactor. *Water Res.* **68**: 793-803.
36. Tallec G, Garnier J, Billen G, Gousailles M. 2006. Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: effect of oxygenation level. *Water Res.* **40**: 2972-2980.
37. Zhu X, Chen Y. 2011. Reduction of N₂O and NO generation in anaerobic-aerobic (low dissolved oxygen) biological wastewater treatment process by using sludge alkaline fermentation liquid. *Environ. Sci. Technol.* **45**: 2137-2143.
38. Hu Z, Zhang J, Li S, Xie H. 2013. Impact of carbon source on nitrous oxide emission from anoxic/oxic biological nitrogen removal process and identification of its emission sources. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**: 1059-1069.
39. Zhang X, Wang X, Zhang J, Huang X, Wei D, Lan W, et al. 2016. Reduction of nitrous oxide emissions from partial nitrification process by using innovative carbon source (mannitol). *Bioresour. Technol.* **218**: 789-795.
40. Shen L, Guan Y, Wu G, Zhan X. 2013. N₂O emission from a sequencing batch reactor for biological N and P removal from wastewater. *Front. Environ. Sci. Eng.* **8**: 776-783.
41. Chen Y, Wang D, Zheng X, Li X, Feng L, Chen H. 2014. Biological nutrient removal with low nitrous oxide generation by canceling the anaerobic phase and extending the idle phase in a sequencing batch reactor. *Chemosphere* **109**: 56-63.
42. Yang HJ, Park JM, Kim MJ. 2008. Estimate of nitrous oxide emission factors from municipal wastewater treatment plants. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **30**: 1281-1286. [Korean Literature]
43. Kampschreur M, Poldermans R, Kleerebezem R, van der Star W, Haarhuis R, Abma W, et al. 2009. Emission of nitrous oxide and nitric oxide from a full-scale single-stage nitrification-anammox reactor. *Water Sci. Technol.* **60**: 3211-3217.
44. Goreau TJ, Kaplan WA, Wofsy SC, McElroy MB, Valois FW, Watson SW. 1980. Production of nitrite and nitrogen oxide (N₂O) by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**: 526-532.
45. Pijuan M, Torà J, Rodríguez-Caballero A, César E, Carrera J, Pérez J. 2014. Effect of process parameters and operational mode on nitrous oxide emissions from a nitrification reactor treating reject wastewater. *Water Res.* **19**: 23-33.
46. Otte S, Grobbs NG, Robertson LA, Jetten MSM, Kuenen JG. 1996. Nitrous oxide production by *Alcaligenes faecalis* under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2421-2426.
47. Desloover J, de Clippeleir H, Boeckx P, du Laing G, Colsen J, Verstraete W, Vlaeminck SE. 2011. Floc-based sequential partial nitrification and anammox at full scale with contrasting N₂O emissions. *Water Res.* **45**: 2811-2821.

48. Castro-Barros C, Daelman M, Mampaey K, van Loosdrecht M, Volcke E. 2013. Dynamics of N₂O emission from partial nitrification-anammox in a full-scale granular sludge reactor. *Proceedings from the 9th International Conference on Biofilm Reactors*, 2013 May 28-31, Paris.
49. Rodriguez-Caballero A, Pijuan M. 2013. N₂O and NO emissions from a partial nitrification sequencing batch reactor: exploring dynamics, sources and minimization mechanisms. *Water Res.* **47**: 3131-3140.
50. Hanaki K, Hong Z, Matsuo T. 1992. Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. *Water Sci. Technol.* **26**: 1027-1036.
51. Schalk-Otte S, Seviour RJ, Kuenen JG, Jetten MSM. 2000. Nitrous oxide (N₂O) production by *Alcaligenes faecalis* during feast and famine regimes. *Water Res.* **34**: 2080-2088.
52. Hynes RK, Knowles R. 1984. Production of nitrous oxide by *Nitrosomonas europaea*: effects of acetylene, pH, and oxygen. *Can. J. Microbiol.* **30**: 1397-1404.
53. Kim DJ, Kim H, Kim Y. 2011. Effect of nitrogen compounds and organic carbon concentrations on N₂O emission during denitrification. *Clean Technol.* **17**: 134-141. [Korean Literature]
54. Wang H, Guan Y, Pan M, Wu G. 2016. Aerobic N₂O emission for activated sludge acclimated under different aeration rates in the multiple anoxic and aerobic process. *J. Environ. Sci.* **46**: 70-79.
55. Leix C, Drewes JE, Ye L, Koch K. 2017. Strategies for enhanced deammonification performance and reduced nitrous oxide emissions. *Bioresour. Technol.* **236**: 174-185.
56. Rotthauwe JH, Witzel KP, Liesack W. 1997. The ammonia mono-oxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 4704-4712.
57. Francis CA, Roberts KJ, Beman JM, Santoro AE, Oakley BB. 2005. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**: 14683-14688.
58. Tourna M, Freitag TE, Nicol GW, Prosser JI. 2008. Growth, activity and temperature responses of ammonia oxidising archaea and bacteria in soil microcosms. *Environ. Microbiol.* **10**: 1357-1364.
59. Schmid MC, Hooper AB, Klotz MG, Woebken D, Lam P, Kuypers MMM, et al. 2008. Environmental detection of octahaem cytochrome c hydroxylamine/hydrazine oxidoreductase genes of aerobic and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Environ. Microbiol.* **10**: 3140-3149.
60. Bru D, Sarr A, Philippot L. 2007. Relative abundances of proteobacterial membrane-bound and periplasmic nitrate reductases in selected environments. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 5971-5974.
61. Throbäck IN, Enwall K, Jarvis Å, Hallin S. 2004. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.* **49**: 401-417.
62. Yu R, Kampschreur MJ, Loosdrecht MC, Chandran K. 2010. Mechanisms and specific directionality of autotrophic nitrous oxide and nitric oxide generation during transient anoxia. *Environ. Sci. Technol.* **44**: 1313-1319.
63. Braker G, Fesefeldt A, Witzel KP. 1998. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3769-3775.
64. Henry S, Baudoin E, López-Gutiérrez JC, Martin-Laurent F, Brauman A, Philippot L. 2004. Quantification of denitrifying bacteria in soils by *nirK* gene targeted real-time PCR. *J. Microbiol. Methods* **59**: 327-335.
65. Braker G, Tiedje JM. 2003. Nitricoxide reductase (*norB*) genes from pure cultures and environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 3476-3483.
66. Yang Y, Huang S, Zhang Y, Xu F. 2014. Nitrogen removal by *Che-latococcus daeguensis* TAD1 and its denitrification gene identification. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **172**: 829-839.
67. Zheng M, He D, Ma T, Chen Q, Liu S, Ahmad M, et al. 2014. Reducing NO and N₂O emission during aerobic denitrification by newly isolated *Pseudomonas stutzeri* PCN-1. *Bioresour. Technol.* **162**: 80-88.
68. Henry S, Bru D, Stres B, Hallet S, Philippot L. 2006. Quantitative detection of the *nosZ* gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, *narG*, *nirK*, and *nosZ* genes in soils. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 5181-5189.
69. Kloos K, Mergel A, Sch C, Bothe H. 2001. Denitrification within the genus *Azospirillum* and other associative bacteria. *Funct. Plant Biol.* **28**: 991-998.
70. Castellano-Hinojosa A, Maza-Márquez P, Melero-Rubio Y, González-López J, Rodelas B. 2018. Linking nitrous oxide emissions to population dynamics of nitrifying and denitrifying prokaryotes in four full-scale wastewater treatment plants. *Chemosphere* **200**: 57-66.
71. Zheng M, Tian Y, Liu T, Ma T, Li L, Li C, et al. 2015. Minimization of nitrous oxide emission in a pilot-scale oxidation ditch: generation, spatial variation and microbial interpretation. *Bioresour. Technol.* **179**: 510-517.
72. Song K, Suenaga T, Hamamoto A, Satou K, Riya S, Hosomi M, et al. 2014. Abundance, transcription levels and phylogeny of bacteria capable of nitrous oxide reduction in a municipal wastewater treatment plant. *J. Biosci. Bioeng.* **118**: 289-297.
73. Erkus O, de Jager VCL, Spus M, van Alen-Boerrigter IJ, van Rijswijk IMH, Hazelwood L, et al. 2013. Multifactorial diversity sustains microbial community stability. *ISME J.* **7**: 2126-2136.
74. Pauleta SR, Dell'Acqua S, Moura I. 2013. Nitrous oxide reductase. *Coord. Chem. Rev.* **257**: 332-349.
75. Thomson AJ, Giannopoulos G, Pretty J, Baggs EM, Richardson DJ. 2012. Biological sources and sinks of nitrous oxide and strategies to mitigate emissions. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **367**: 1157-1168.
76. Zumft WG, Kroneck PM. 2007. Respiratory transformation of nitrous oxide (N₂O) to dinitrogen by Bacteria and Archaea. *Adv.*

- Microb. Physiol.* **52**: 107-227.
77. Viebrock A, Zumft WG. 1988. Molecular cloning, heterologous expression, and primary structure of the structural gene for the copper enzyme nitrous oxide reductase from denitrifying *Pseudomonas stutzeri*. *J. Bacteriol.* **170**: 4658-4668.
 78. Simon J, Einsle O, Kroneck PM, Zumft WG. 2004. The unprecedented *nos* gene cluster of *Wolinella succinogenes* encodes a novel respiratory electron transfer pathway to cytochrome c nitrous oxide reductase. *FEBS Lett.* **569**: 7-12.
 79. Figueroa-González I, Quijano G, Laguna I, Muñoz R, García-Encina PA. 2016. A fundamental study on biological removal of N₂O in the presence of oxygen. *Chemosphere* **158**: 9-16.
 80. Frutos OD, Quijano G, Pérez R, Muñoz R. 2016. Simultaneous biological nitrous oxide abatement and wastewater treatment in a denitrifying off-gas bioscrubber. *Chem. Eng. J.* **288**: 28-37.
 81. Kartal B, Kuenen JG, van Loosdrecht MCM. 2010. Sewage treatment with Anammox. *Science* **328**: 702-703.
 82. Ettwig KF, Butler MK, Le Paslier D, Pelletier E, Mangenot S, Kuypers MM, et al. 2010. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature* **464**: 543-548.
 83. He Z, Feng Y, Zhang S, Wang X, Wu S, Pan X. 2018. Oxygenic denitrification for nitrogen removal with less greenhouse gas emissions: Microbiology and potential applications. *Sci. Total Environ.* **621**: 453-464.
 84. Ettwig KF, Speth DR, Reimann J, Wu ML, Jetten MS, Keltjens JT. 2012. Bacterial oxygen production in the dark. *Front. Microbiol.* **3**: 273.
 85. Ehrenreich P, Behrends A, Harder J, Widdel F. 2000. Anaerobic oxidation of alkanes by newly isolated denitrifying bacteria. *Arch. Microbiol.* **173**: 58-64.
 86. Zedelius J, Rabus R, Grundmann O, Werner I, Brodkorb D, Schreiber F, et al. 2011. Alkane degradation under anoxic conditions by a nitrate-reducing bacterium with possible involvement of the electron acceptor in substrate activation. *Environ. Microbiol. Rep.* **3**: 125-135.
 87. Coates JD, Chakraborty R, Lack JG, O'Connor SM, Cole KA, Bender KS, et al. 2001. Anaerobic benzene oxidation coupled to nitrate reduction in pure culture by two strains of *Dechloromonas*. *Nature* **411**: 1039-1043.
 88. Chakraborty R, O'Connor SM, Chan E, Coates JD. 2005. Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 8649-8655.