

탈질화 반응기의 설계 및 특성에 관한 연구

김선화 · 송주영*

창원대학교 화공시스템공학과

A Study on the Design of Denitrification Reactor and the Characteristics

Sun Hwa Kim and Ju Yeong Song*

Department of Chemical Engineering, Changwon National University,
Changwon 641-773, Korea

Abstract

Removal of nitrogen compound from waste water is essential and often accomplished by biological process. Denitrification bacterium, *Paracoccus denitrificans* (KCTC 2350) is employed to estimate the ability and the characteristics of denitrification.

In the immobilized biological reactor system, the measurement of absolute amount of active strain in the reactor is comparatively difficult or impossible. In this study, strain immobilized denitrification reactor was designed with the unwoven texture wrapped peeped hole plastic tube to calculate the absolute amount of active strain by comparing the activity of the immobilized reactor and the free cell reactor. The reactor system was continuous stirred tank reactor and the rate of substrate consumption was assumed to be Michaelis-Menten equation.

As a result, we found that the amount of immobilized active strain was the half of the total active strain in the reactor and the time required to reach in the equilibrium state in the immobilized reactor system was shorter than that of the free cell reactor system.

Key words – *Paracoccus denitrificans*, denitrification, reactor, Michaelis-Menten equation

서 론

우리 나라의 경우 수자원이 부족하여 다목적 댐 등 각종 댐에 의하여 조성되는 저수지가 중요한 용수 원으로 사용되고 있으나 급속한 개발정책 및 산업화에 기인하여 생활하수와 공장폐수에 의해 극도로 오염된 전국 하천이 상수

원으로 이용되고 있는 호수로 유입됨으로써 국내 호수의 반 이상이 이미 부영양화되어 있거나 진행되고 있어서 부영양화의 요인 중의 하나인 질소의 제거는 필수적인 부분으로 대두되고 있다[2]. 자연에서 질소는 암모니아성 질소, 질산성 질소 그리고 아미노산과 같은 유기물의 형태로 존재한다. 이러한 질소 화합물들이 물 속에 녹아 들어가 그 농도가 증가할 경우 부영양화가 일어나며, 이에 따라 물속의 조류가 급격히 증가하여 적조, 녹조 등의 현상을 일

*To whom all correspondence should be addressed

Tel: 055-279-7585, Fax: 055-283-6465

E-mail: jusong@sarim.changwon.ac.kr

오켜 수질의 악화나 어류의 폐사 등을 일으키기도 한다. 이런 질소화합물을 처리하는데는 물리화학적 처리법보다 생물학적 처리법이 더 많이 이용되고 있으며, 본 연구에서는 질산 호흡이 가능한 탈질 균주 *P. denitrificans*를 선행의 연구 결과를 활용하여 실험을 하였다[5].

일반적으로 고정화된 균주를 이용하여 폐수 처리를 수행할 때, 실제 폐수 처리를 수행하는 균주의 절대 총량을 측정하기가 힘들며, 총량을 측정한다고 하여도 실제 역가를 가지고 있는 균주의 양을 정확하게 측정하는 것은 대단히 어렵다. 따라서 본 연구에서는 여과포를 씌운 유공관을 이용하여 고정화 반응기를 연속 교반 반응기 형태로 제작하고 이 고정화 반응기와 미고정화 반응기의 탈질소 처리 효율을 비교하여 고정화된 반응기내의 총 활성 균주 량을 상대 비교하고자 하였다.

이 론

세포반응속도와 연속교반반응기

미생물집단은 연속배양체계의 사용에 의해 장시간에 걸쳐 지수 성장상태를 유지할 수 있다. 연속교반반응기(CSTR)는 유입, 유출 속도를 미세하게 조절하여야 하며 발포현상과 세포 뭉침으로 인한 막힘 현상을 해결하여야 한다[1]. 실제 역가를 유지하면서 고정화되어 있는 균주의 양을 측정하기 위하여 active depth를 측정하기도 하지만, 정확도가 떨어지기 때문에 고정화반응기와 미고정화반응기의 실제 탈질처리능력을 비교하여 역으로 고정화 되어있는 활성 균주의 양을 측정하고자 하였다.

연속교반반응기(CSTR)의 물질수지식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{Input} - \text{Output} + \text{Generation} = \text{Accumulation} \quad (1)$$

$$FC_{si} - FC_s + rV = V \frac{dC_s}{dt} \quad (2)$$

식(2)에서 등호의 오른쪽은 정상상태에서 0이 되며, C_{si} 는 유입 질산성 질소 농도, C_s 는 유출 질산성 질소 농도이며, F 는 유량, V 는 반응기내의 반응부피이다. 또 r 은 미생물반응에 의한 기질 소비속도이고 $\frac{dC_s}{dt}$ 는 반응기 내 기질농도의 변화이다. 기질 소비속도 r 이 Michaelis-Menten(M-M)식을 따른다고 가정하고 식(3)을 식(2)에 대입하여 정리하

면 식(4)으로 정리된다. 이때 식(3)에서 $K_{M,app}$ 과 $r_{max,app}$ 는 겉보기 M-M 매개 변수이며 τ 는 체류시간이다[3].

$$r = - \frac{r_{max,app} C_s}{K_{M,app} + C_s} \quad (3)$$

$$\frac{F}{V} = \frac{1}{\tau} = - \frac{r_{max,app} C_s}{(C_{si} - C_s)(K_{M,app} + C_s)} \quad (4)$$

이 식을 식(5)와 같이 정리하여 C_s vs $\frac{C_s \tau}{C_{si} - C_s}$ 로 도식하면 기울기 $r_{max,app}$ 를 가지고 절편 $-K_{M,app}$ 을 가지는 선형 함수로 정리된다.

$$C_s = -K_{M,app} + r_{max,app} \frac{C_s \tau}{(C_{si} - C_s)} \quad (5)$$

따라서 유량을 달리하여 τ 를 변화시키면서 일련의 정상상태 CSTR 실험을 하고, C_s 대 $(C_s \tau)/(C_{si} - C_s)$ 의 관계로부터 각각의 $r_{max,app}$ 와 $K_{M,app}$ 를 구할 수 있는데 이때 $r_{max,app}$ 는 (6)식과 같이 정리된다.

$$r_{max,app} = k_T \times C_X \quad (6)$$

k_T 는 constant이고 C_X 는 총 활성 균주의 농도이며 각각의 $r_{max,app}$ 값으로부터 고정화 반응기 내의 활성 균주 총량을 계산할 수 있다.

재료 및 방법

균주의 배양

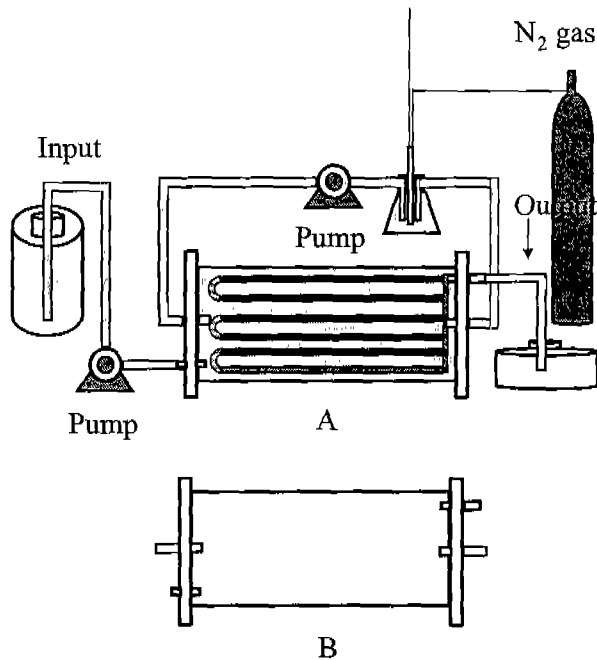
동결 건조되어 있는 *P. denitrificans*[4]를 액체 배지 3 mL 정도에 녹여 균주를 표 1의 배지에 agar 1.8 (W/V)%를 첨가하여 녹인 후 고형화시킨 평판 배지 위에 clean bench 안에서 살균된 백금이를 이용하여 접종하였다. 접종된 평판 배지를 30°C의 배양기(Shaking Incubator VS-8480SR, Vision Co, LTD. Korea)에서 3일간 배양하였다.

Table 1. Composition of culture media for *P. denitrificans* in plate culture

Composition	Quantity(g/L)
polypeptone	4.0
yeast extract	2.0
K ₂ HPO ₄	10.0
glucose	10.0

균이 성장한 평판 배지를 4°C 냉장고에 보관하여 1개월마다 계속 배양했으며, 평판 배지에 자란 균 콜로니 일부를 clean bench 안에서 살균된 백금으로 떼어 표 1에 나타난 배지액 7 mL를 시험관(1.8×18 cm)에 넣고, 30°C의 배양기에서 3일간 1차 배양을 하였다. 1차 배양된 균이 자라면, 500 mL 플라스크에 고압멸균기(KMC 1221 Vison, Kor.)에서 120°C, 30분간 고압 멸균된 액체배지(표 1의 성분) 140 mL를 넣고, 상온에서 식힌 후에, 1차 배양된 균주액 14 mL를 주입시켜 2차 배양시킨다. 배지액 pH는 6.8로 조절하여 사용하였다.

Fig. 1의 반응기내에 표 2의 성분 배지액 9000 mL를 만들어 고압멸균기에서 120°C로 30분 동안 멸균 시켜 상온에서 식힌 후에 0.030 mL/sec 유속으로 반응기내에 공급시켜 균주를 배양한다. *P. denitrificans*는 anoxic 조건하에 NO₂-N, NO₃-N를 호흡원으로 이용하기 때문에, 반응기내에 10 mL/sec의 질소가스를 공급하여 anoxic 분위기를 만들었고, 합성 폐수 질산성 질소는 질산칼륨(KNO₃) 0.722 g을 초순수 1000 mL에 녹여(0.1 mg NO₃-N/mL) 사용하였다[6].



(A) Immobilized cell reactor (B) Free cell reactor
Fig 1. Schematic diagram of CSTR system.

Table 2. Composition of culture media for *P. denitrificans* in flask culture

Composition	Quantity(g/L)
polypeptone	0.08
yeast extract	0.04
K ₂ HPO ₄	0.20
glucose	0.20

체류시간에 따른 탈질 정도

고정화 반응기와 미고정화 반응기의 체류시간에 따른 탈질 정도를 알아보기 위하여, *P. denitrificans*를 반응기내에서 배양하고, 합성 폐수를 각각 유속을 달리하여 공급하여 체류시간에 따라 시료를 채취한 다음 이온 크로마토그래피에서 질산성 질소와 아질산성 질소의 농도를 분석하였다.

유출 균주의 농도 분석

고정화 반응기의 체류시간에 따른 고정화 반응기내의 균주 양을 측정하기 위하여, 각 반응기의 반응된 시료액을 건조질량 측정법을 이용하여 확인하였다. 실험 방법은 여과지 CF/C (47 mm φ, Whatman, Eng.)를 먼저 증류수로 적신 다음 건조기(MOF-212F Sanyo, Japan)로 50°C에서 12시간 건조시키고 여과지의 무게를 잰 후에, 시료 20 mL를 완충액으로 여과하고 증류수로 두 번 세척 후, 같은 방법으로 건조시켜서, 두 경우의 무게 차이를 균주 양으로 간주하였다. 고정화 반응기와 미고정화 반응기의 유속에 따른 탈질화 정도의 실험 값으로 M-M 식에 적용시켜 고정화 반응기의 효율성과 고정화 반응기내의 활성균주의 양을 추정하였다.

분석방법

*P. denitrificans*의 탈질 실험에서 질산성 질소와 아질산성 질소의 농도를 분석 위하여 이온크로마토그래피 (DX-120 Dionex, U. S. A.)를 사용하였다. 이동상은 3.5 mM Na₂CO₃와 1.0 mM NaHCO₃를 초순수 1 L에 녹인 후 여과하여 사용하였으며 조작조건은 표 3과 같다.

Table 3. Operating conditions of ion chromatography

Eluent flow rate	1.2 mL/min.
Applied pressure	1340 psi.
Purge gas	N ₂
Column	AS-14

결과 및 고찰

고정화 반응기에서 체류시간에 따른 탈질 정도

고정화 반응기의 체류시간에 따른 탈질 정도를 측정하기 위하여, 질산성질소용액 유속을 1.375 L/hr, 1.713 L/hr, 3.456 L/hr로 변화시켰을 때의 결과를 Fig. 2-4에 나타내었다. Fig. 2의 결과에서 보듯이 4 시간 정도 지나고 나면 질산성 질소와 아질산성 질소의 농도가 거의 0에 가까워 체류시간에 따른 CSTR 조작으로 반응은 정상상태에 도달하

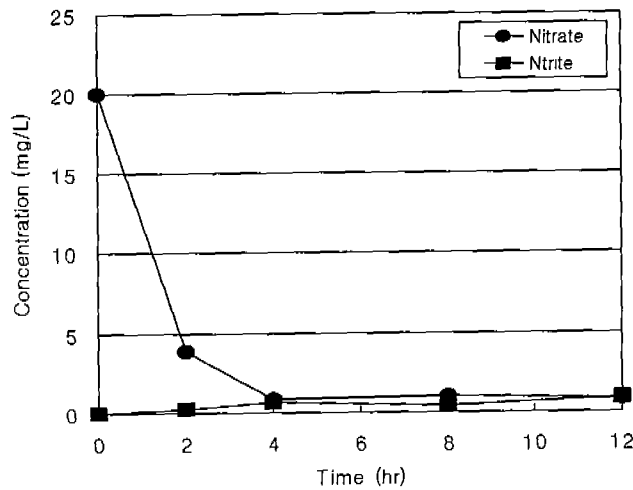


Fig 2. Denitrification ability of retention time 4.14 hr in a CSTR immobilized cell reactor.

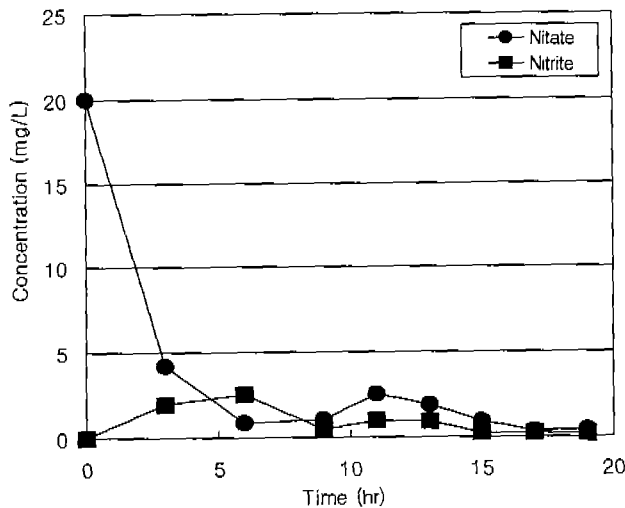


Fig 3. Denitrification ability of retention time 3.33 hr in a CSTR immobilized cell reactor.

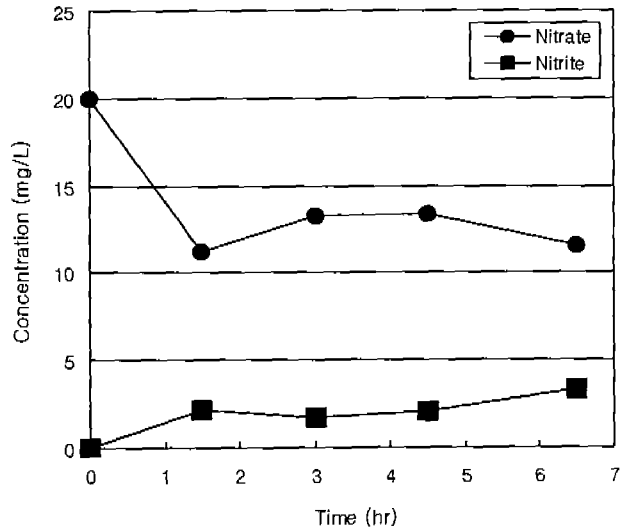


Fig 4. Denitrification ability of retention time 1.65 hr in a CSTR immobilized cell reactor.

는 것으로 나타났고, 이 후의 실험도 질산성 질소와 아질산성 질소가 거의 0에 도달하면 정상상태에 도달하였다고 판단하였다. 이 실험에서는 질산성 질소가 아질산성 질소로 환원된 다음에 기체 질소 가스로 환원되는데 기질의 유출 농도는 질산성 질소와 아질산성 질소의 합을 유출농도로 잡았다. Fig. 4에서는 체류시간이 짧아서 2시간 정도 지나고 나면 연속교반반응기 조작에서 13.7 mg/L 정도가 유출 농도로 측정되어서 2 시간 이후에는 정상상태에 도달하였다고 보고 이 농도를 정상상태에서 기질의 유출 농도로 잡았다.

미고정화 반응기에서 체류시간에 따른 탈질 정도

미고정화 반응기에서의 체류시간에 따른 탈질 정도를 측정하기 위하여 질산성질소용액 유속을 1.03 L/hr, 1.38 L/hr, 1.71 L/hr으로 변화시켰을 때의 질산성 질소와 아질산성 질소의 변화량을 Fig. 5-7에 나타내었다. 미고정화 반응기에서의 시간에 따른 탈질 정도는 고정화 반응기에서와 마찬가지로 균주의 적응기가 보였고, 고정화 반응기와의 탈질 능력을 비교해 보면 질산성질소의 질소 가스 (N₂)로 전환되는 시간이 더 오래 걸림을 알 수가 있었다. 이것은 실제 유출 균주 농도는 고정화 반응기 조작에서와 동일 하지만 고정화 반응기 조작에서는 유공관 주변에 고정화되어 있는 균주의 양이 있기 때문에 동일한 체류시간에서도 탈질 능력의 차이를 보이는 것으로 나타났고, 서로 다른 체

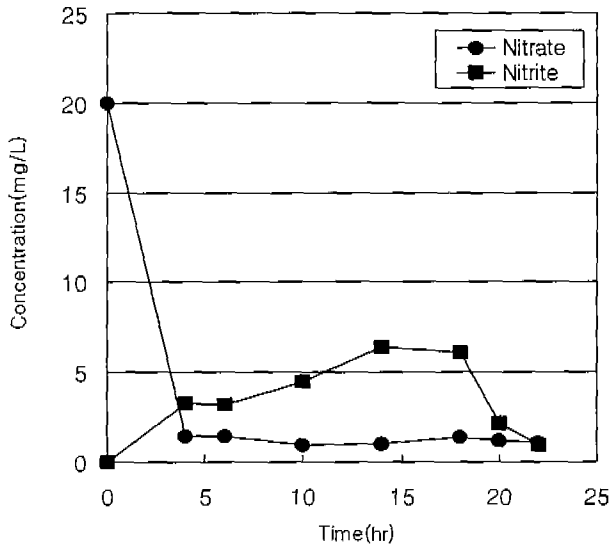


Fig 5. Denitrification ability of retention time 3.89 hr in a CSTR free cell reactor.

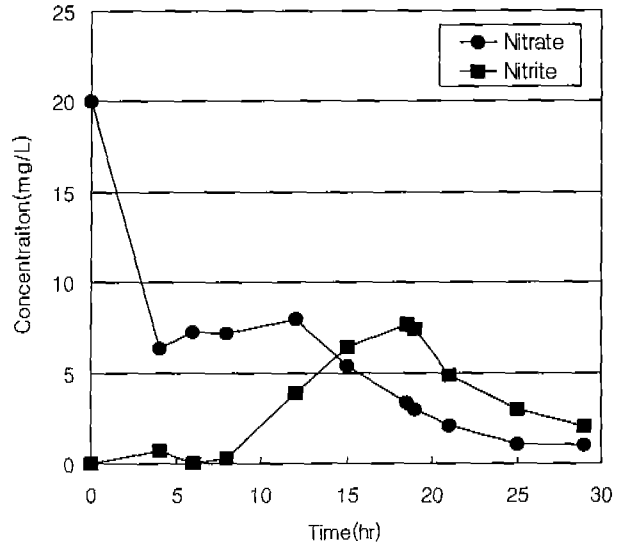


Fig 6. Denitrification ability of retention time 2.9 hr in a CSTR free cell reactor.

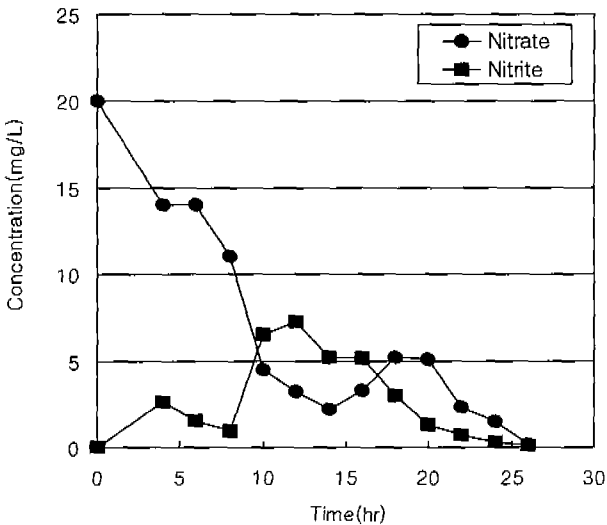


Fig 7. Denitrification ability of retention time 2.33 hr in a CSTR free cell reactor.

류 시간에 따른 기질의 유출농도로 체류시간이 3.89시간인 경우는 5.3 mg/L, 2.9시간인 경우 6.9 mg/L, 2.3시간인 경우 14.2 mg/L로 나타나, 이 유출 농도를 이론식에 적용하여 미고정화 반응기의 $\gamma_{max,app}$ 를 계산하였다.

균주의 유출 농도

고정화 반응기와 미고정화 반응기의 공급 유속에 따른 유출 균주의 농도는 표 4와 같다.

Table 4. Effluent strain concentration from the reactor at each flow rate.

Flow rate (mL/sec)	Effluent strain concentration (mg/mL)	
	Immobilized cell reactor	Free cell reactor
0.286	0.230	0.220
0.382	0.223	0.188
0.476	0.140	0.154

Michaelis-Menten 식의 매개변수 평가

고정화 반응기와 미고정화 반응기의 효율성과 고정화 반응기내의 실제 고정화 되어있는 활성 균주의 양을 계산하기 위해 M-M 식을 적용하였다. 기질농도가 낮은 범위에서는 반응속도가 기질 농도에 비례하는 M-M 식에 의해 Fig. 8과 같이 나타났다. 이 그림에서 보여지는 바와 같이 고정화 반응기에서의 $r_{max,app}$ 인 기울기와 미고정화 반응기에서의 $r_{max,app}$ 인 기울기가 각각 6.04과 3.04로 나타났으며, 이 차이는 동일한 turn over number를 가정하였을 때 각 반응기의 활성 균주의 총량의 차이에 의한 것임을 확인하였다. 따라서 체류시간이 4 시간인 경우의 유출 농도는 건조 질량법에 의해 확인한 0.22 mg/mL와 M-M 식으로 구해진 반응속도에 의해, 순수 고정화된 균주의 양이 0.22 mg/mL임을 확인하였다. 이 결과로 인하여 고정화 반응기 부피 5700 mL를 기준으로 할 때 반응기내에 고정화 되어

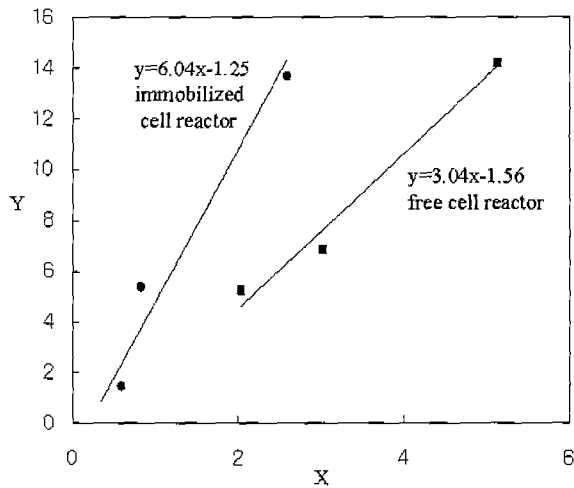


Fig 8. Parameter estimation of Michaelis-Menten equation.

$$(X = \frac{C_S \tau}{C_{Si} - C_S}, Y = C_S, \text{Slope} = \gamma_{max,app}, \text{Intercept} = K_{M,app})$$

있는 활성 균주의 총량은 1237.5 mg 정도로 나타났다. 따라서 역가를 가지면서 고정화 되어있는 $r_{max,app} = 6.08$ 와 동일한 조작의 미고정화 반응기의 $r_{max,app} = 3.04$ 를 비교할 때, 고정화 반응기의 $r_{max,app}$ 값이 미고정화 반응기의 $r_{max,app}$ 값보다 약 2 배정도 되어서 고정화 반응기 내에 존재하는 균주의 1/2은 고정화 되어있고 1/2는 미고정화 상태로 존재하는 것으로 나타났다. 고정화 반응기와 미고정화 반응기의 $K_{M,app}$ 값은 1.25, 1.56로 각각 나타났다. 이 $K_{M,app}$ 값은 반응 평형에 어느 정도 빨리 도달할 수 있는지를 나타내는 매개 변수이기 때문에 균주를 고정화 시켰을 때의 $K_{M,app}$ 가 낮게 나타난 고정화 반응기가 반응 평형에 빨리 도달하는 것으로 나타났다.

요 약

여과포를 씌운 유공관을 이용하여 고정화 반응기를 제작하고, 고정화 반응기내에 탈질 균주를 고정화하여 미고정화된 반응기와의 탈질소 처리 효율을 비교하였으며, 반

응기 효율을 M-M 식에 의하여 확인한 결과 고정화 반응기가 미고정화 반응기보다 반응 평형 상태에 빨리 도달하는 것으로 확인되었다.

고정화 반응기는 M-M 식에서 구해진 반응속도에 의해, 실제 고정화되어 있는 균주 량이 0.22 mg/mL임을 확인하였고, 반응기 부피 5700 mL를 기준으로 하면 반응기내에 고정화되어 있는 활성 균주의 총량은 1237.5 mg 정도로 나타났다으며 이 양은 고정화반응기내에 존재하는 활성 균주 총량의 1/2로 나타났다.

균주를 반응기내에 고정화시킴으로써, 높은 농도의 미생 물을 이용하여 유기물 및 영양 물질 처리 효율을 높이고, 연속교반반응기 시스템으로 내용물이 잘 혼합되고 휴지시간을 배제하여, 반응기 효율성을 높여 실질적 폐수처리 가능성을 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Kim, S. W., J. S. Lee, Y. S. Jung, Y. I. Cho and S. I. Hong. 1997. Biochemical Engineering. pp.146-151, 1st ed., Heejungdang, Seoul.
2. Lee, W. S. 1999. The solution of advanced treatment for elimination nutrient from the municipal wastewater by biosorption, pp.47-50, Master's thesis, Graduate School of Engineering in Seoul Industrial University, Seoul, Korea.
3. Octave Levenspiel. 1999. Chemical Reaction Engineering. pp.612-613, 3rd ed., John Wiley & Sons. New York.
4. Park, Y. H., and K. S. Bae. 1992. KCTC catalogue of strain, 3rd ed., Korean Collection for Type Cultures.
5. Yeo Y. H. 1998. Effect of Organic Carbon on the Denitrification from Waste Water by Paracoccus Denitrification. pp.19, Master's thesis, Graduate School of Engineering in Changwon National University, Changwon, Korea.
6. 編輯部. 1993. 水質汚染・廢棄物公定試驗方法. pp. 307, 圖書出版 東和技術.

(Received April 27, 2001; Accepted June 1, 2001)