

혐기성 암모늄 산화공정에서 혐기성 회분식 실험에 의한 NH₃-N/NO₂-N의 최적비 산정

이환희*,** · 김이중* · 정진영†,* · 김지형**

*한국과학기술연구원 환경기술연구단 · **고려대학교 건축사회환경공학과

(2008년 3월 3일 접수, 2008년 6월 23일 채택)

Determination of the Optimum NH₃-N/NO₂-N Ratio by Anaerobic Batch Test in Anaerobic Ammonium Oxidation Process

Hwan-Hee Lee*,** · Ijung Kim* · Jin-Young Jung†,* · Jee-Hyung Kim**

*Center for Environmental Technology Research, KIST

**Department of Civil, Environmental and Architectural Engineering, Korea University

ABSTRACT : Nitrite and free ammonia have been known as substrate inhibitors in anaerobic ammonium oxidation. To reduce inhibitory effect of these substrates, the NH₃-N/NO₂-N ratio in the influent could be properly controlled in anaerobic ammonium oxidation process. Five kinds of NH₃-N/NO₂-N ratio were assayed in batch to find optimum NH₃-N/NO₂-N ratio, curtailing substrate inhibition. As the results of batch test, the highest T-N removal efficiency of 88% was obtained at 1.00 : 1.30 of NH₃-N/NO₂-N ratio. In addition, rate constants for ammonium and nitrite in zero-order kinetics were found to be the highest values as 7.66 mg/L · hr and 11.89 mg/L · hr at 1.00 : 1.30 ratio, respectively. However, as for the specific anammox activity, the ratio of NH₃-N/NO₂-N ratio was recommended as 1 : 1.15 which can maintain the highest SAA during continuous operation and preclude the accumulation of nitrite in the reactor.

Key Words : Anaerobic Ammonium Oxidation, Ammonium Nitrogen to Nitrite Nitrogen Ratio, Inhibitor, Anaerobic Batch Test, Specific Anammox Activity

요약 : 혐기성 암모니아 산화공정에서 nitrite는 저해인자로 잘 알려져 있고, 최근에는 유리 암모니아 역시 anammox bacteria에 저해 영향을 주는 것으로 보고되고 있다. 유입수의 암모니아와 아질산의 비율이 연속운전에서 효과적인 질소제거에 중요한 인자가 되며, 연속운전 반응기에서는 유리 암모니아와 아질산의 축적을 방지하기 위해 유입수의 NH₃-N/NO₂-N비를 조절할 필요가 있다. 이에 본 연구에서는 다섯 가지 종류의 NH₃-N/NO₂-N비를 회분식 실험을 통해 잔류 암모니아성 질소와 아질산성 질소의 농도를 최소화하는 비를 조사하였다. 회분식 실험 결과 실험 26시간 후에 1.00 : 1.30의 비에서 88%에 달하는 총질소 제거율이 나타났다. 그리고 혐기성 암모늄 산화 반응은 0차 반응을 나타내었고, 암모니아와 아질산의 반응 속도상수는 1.00 : 1.30의 비에서 각각 7.66 mg/L · hr과 11.89 mg/L · hr로 가장 높게 나타났다. 혐기성 암모늄 산화균 활성도를 측정해본 결과 1.00 : 1.15의 비에서 미생물의 활성도가 가장 우수한 것으로 나타났다. 회분식 실험의 결과를 통해, 이론적 반응비와 비슷한 1.00:1.30에서는 반응속도가 크고 총질소 제거율도 높은 반면 혐기성 암모늄 산화균은 이론적 반응비보다 다소 낮은 아질산 농도에서 안정하다는 것을 확인할 수 있었다.

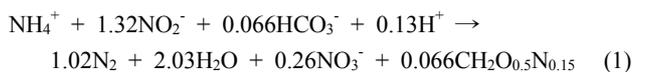
주제어 : 혐기성암모늄산화, 혐기성 회분식실험, 암모니아성 질소/아질산성 질소 비, 저해인자, 미생물 활성도

1. 서론

폐수의 질소처리 공정 중 질산화와 탈질화 연계 공정은 현재 생물학적 질소처리 시스템에서 가장 광범위하게 사용되고 있다. 이 방법은 외부 탄소원이 요구되며, 발생하는 슬러지 처리에 대한 부담이 있어 보다 경제적으로 처리 공법을 개선할 필요가 있다. 1995년 네덜란드의 탈질조에서 발견된 혐기성 상태의 암모니아 산화 반응으로 학계에 보고된 Anammox 공정은 ammonia와 nitrite를 각각 전자 공여체와 전자 수용체로 사용하여 질소를 제거함으

로써, 기존의 질소 제거 과정을 단축함과 동시에 별도의 유기물을 주입할 필요가 없으며 부산물인 슬러지의 발생량도 감축할 수 있어 경제적이며 친환경적인 질소 제거 공법으로 알려져 있다.^{1,2)}

Strous et al.³⁾은 ammonia과 nitrite가 반응하여 질소가스와 소량의 nitrate가 생산되는 식 (1)을 제시했다.



이 식에 따른 질소 비율은 ammonia, nitrite와 nitrate의 비가 1.00 : 1.32 : 0.26으로 나타난다. 따라서 유입수의 조성이 ammonia와 nitrite가 1.00 : 1.32일 때 이론적으로 Anammox

† Corresponding author
E-mail: jjjung@kist.re.kr
Tel: 02-958-5837

Fax: 02-958-5839

Table 1. Comparisons of NH₃-N/NO₂-N ratio reported in literatures

	NH ₃ -N	NO ₂ -N
C. Fux et al. ⁴⁾	1.00	1.08~1.26
Urara Imajo et al. ⁵⁾	1.00	1.05
D. Guven et al. ⁶⁾	1.00	1.20
Marc Strous et al. ⁷⁾	1.00	1.00
Young-Ho Ahn et al. ⁸⁾	1.00	0.8~1.2

반응이 가장 잘 일어난다고 볼 수 있다. 하지만 많은 연속운전 반응기 연구에서는 이론적 유입 질소비를 사용하지 않고 있다(Table 1).

Anammox반응에서 nitrite는 기질입과 동시에 저해인자로 작용한다.⁹⁾ 근래에는 free ammonia 역시 anammox반응의 저해인자로 보고되고 있다.^{1,10)} 이는 유입수의 ammonia와 nitrite 비율이 연속운전에서 효과적인 질소제거를 위한 중요한 인자가 될 수 있음을 의미한다.¹¹⁾ 따라서, 본 연구에서는 혐기성 암모늄 산화공정의 최적 유입기질 비 산정을 위한 기초실험으로서 회분식 실험을 통해 최적의 암모니아와 아질산성비를 조사하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 혐기성 회분식 실험

최적의 Anammox 반응이 일어나는 NH₃-N/NO₂-N비를 살펴보기 위해 NH₃-N/NO₂-N의 비율을 달리 하여 혐기성 회분식 실험을 수행하였다. 일반적으로 연속운전에서 사용되는 유입수의 조성비와 이론적인 반응비를 고려하여 1.00 : 0.85, 1.00 : 1.00, 1.00 : 1.15, 1.00 : 1.30, 1.00 : 1.45의 다섯 가지 반응비를 적용하였다. 유입수는 합성폐수를 사용하였으며(Table 2), NH₃-N의 농도는 70 mg/L까지 Anammox 반응에 저해가 없는 것으로 밝혀져¹²⁾ 70 mg/L로 고정하여, 유입수 내 NH₃-N 농도에 의한 미생물의 저해 현상을 방지하고자 하였다.

회분식 실험에 사용된 식종미생물은 실험실 내 Anammox 배양 반응기¹³⁾로부터 취하였으며, 각 serum bottle에는 10 mL의 Anammox 미생물과 100 mL의 합성폐수를 주입하였다. 용존 산소를 최소화하기 위해 serum bottle을 아르곤 가스로 10분간 탈기하였다. 35℃, 150rpm의 교반속도를 유지하는 배양기에서 총 26시간동안 혐기성 암모늄 산

Table 2. Concentrations of ammonium and nitrite at different NH₃-N/NO₂-N ratio in the anaerobic batch test

NH ₃ -N:NO ₂ -N	mg NH ₃ -N/L	mg NO ₂ -N/L	Additives
1.00:0.85	70	59.5	NaHCO ₃ 0.672 g/L
1.00:1.00	70	70	KH ₂ PO ₄ 0.027 g/L
1.00:1.15	70	80.5	MgSO ₄ 0.123 g/L
1.00:1.30	70	91	CaCl ₂ 0.131 g/L
1.00:1.45	70	101.5	Trace element (Van de Graaf et al.)

화 반응에 의한 변화를 관찰하였다. 각각의 비율에 대해 serum bottle은 2개씩 준비하여, 하나는 회분식 반응에 따른 가스발생량 측정을, 다른 하나는 분석 샘플링을 위한 용도로 사용하였다.

2.2. SAA(Specific anammox activity)의 측정

Anammox activity에 관한 식은 Buys et al.¹⁴⁾가 제시하였으며, Depena-Mora et al.¹⁵⁾에 의해 수정되었다. SAA는 최대 가스 생성 속도(mL/d)를 serum bottle안에 있는 미생물의 양(g VSS)으로 나눈 값으로 표현된다. 여기서 최대 가스 생성속도는 식 (2)와 같이 수정된 Gompertz 방정식¹⁶⁾으로 통해 도출될 수 있다. 제시된 Gompertz 방정식은 가스생성율이 미생물의 활성도와 비례하는 것으로 가정하여 도출된 식이며, 이 비례 변수는 일차반응과 같이 시간에 따라 감소하며, 이는 반응속도가 반응시간에 따라 효율이 떨어지는 것으로 설명할 수 있다.

$$y = P \cdot \exp\left\{-\exp\left[\frac{R_m \cdot e}{P}(\lambda - x)\right] + 1\right\} \quad (2)$$

여기서, R_m : 최대 가스 생성속도(mL/day), P : 가스 생산 잠재량(mL), λ : 반응지체시간(day), e : 2.718281828, x : 반응시간(day), y: 누적 가스 생산량(mL)

SAA(gN₂-N/g VSS/day)의 산출은 Depena-Mora et al.¹²⁾에 의해 식 (3)과 같이, 위의 식에서 구한 최대 가스 생성속도, R(L/day)을 serum bottle 안의 미생물 양(g VSS/L)으로 나누어 구하였다.

$$SAA(gN_2-N/g VSS/day) = \frac{\text{Maximum Gas Production rate}(L/d)}{VSS(g/L) \cdot V_L(L)} \cdot \frac{28gN_2-N}{mol} \cdot \frac{mol}{22.4L} \quad (3)$$

여기서, V_L: 시료량(L)

2.3. 분석방법

NH₄⁺-N 농도는 kjeldahl nitrogen analysis(Kjeltec 1035, Sweden)로 측정하였고 nitrite는 Standard Methods(APHA, 1998)의 colorimetric method에 의해 525 nm에서 흡광도 (Genesys 6, USA)를 통해 분석하였다. Nitrate의 분석에는 ion chromatography(Dionex 120, USA)를 사용하였으며, 가스 조성은 TCD detector를 장착한 gas chromatography(Agilent 6890, USA)로 분석하였다. VSS와 alkalinity는 Standard Methods(APHA, 1998)에 기술된 방법으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 회분식 실험결과

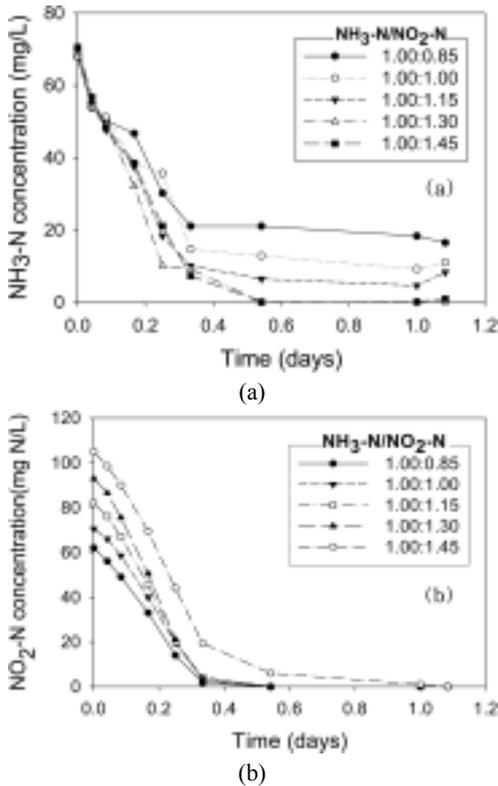


Fig. 1. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (a) and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (b) concentration at different $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}$ ratio in the anaerobic batch test.

실험에 적용된 다섯 가지 비율에서 $\text{NH}_3\text{-N}$ 과 $\text{NO}_2\text{-N}$ 농도의 감소와 함께 $\text{NO}_3\text{-N}$ 농도의 증가와 질소가스의 발생이 관찰되어 혐기성 암모늄 산화 반응이 진행됨을 확인할 수 있었다. 26시간 후 남은 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 농도는 초기의 $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}$ 의 비에 따라 다르게 나타났으며, 이는 상대적으로 nitrite보다 ammonium이 과량 주입된 경우, 회분식 실험 기간 동안 nitrite가 전자 수용체로써 다 소모되어 없어진 까닭에 과잉의 ammonium이 남게 된 것으로 판단된다.

Nitrite는 Fig. 1(b)에 나타난 바와 같이 $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}$ 비 1.00 : 1.45를 제외하고는 반응이 시작된 후 0.6일 후에 nitrite 농도가 완전히 없어진 것을 볼 수 있는데, 이것은 회분식 반응기에 주입한 ammonium의 농도가 반응기내 nitrite를 산화시키기에 충분하였기 때문인 것으로 판단된다. Fig. 2는 반응시간 동안 발생된 질소 가스의 양을 누적하여 그린 것이다. 생성된 질소가스의 양은 넣어준 기질의 양과 비례하여 발생하였고 1.00 : 1.45비에서 가장 많은 질소가스발생량이 관찰되었다. 이론적으로는 1.00 : 1.30과 1.00 : 1.45는 비슷한 양이 발생하여야 하지만 Fig. 1(a)에 나타난 바와 같이 반응 13시간 이후에 ammonium이 거의 제거되었음에 불구하고 nitrite가 지속적으로 감소한 것으로 보아 미생물 용출(cell lysis)에 의한 ammonium의 용출에 기인한 추가적인 Anammox반응으로 판단된다. 그리고 미생물 용출에 의한 유기탄소원이 아질산염의 탈질산화 반응에 사용되어 추가의 미량 질소가스가 생성된 것으로 판단된다.

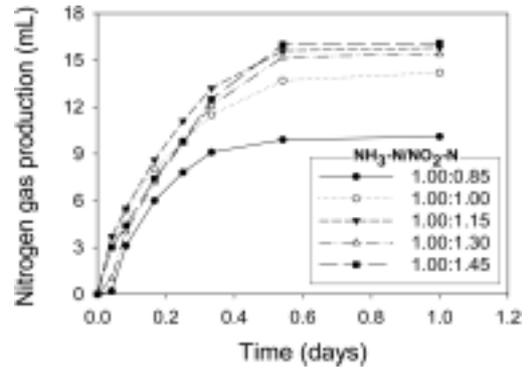


Fig. 2. Cumulative nitrogen gas production $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}$ ratio in the anaerobic batch test.

Anammox 반응은 0차 반응으로 나타났고, 반응속도상수(Table 3)를 기준으로 1.00 : 1.30비가 가장 빠른 반응속도를 보였다(Fig. 3). 이때의 Ammonia의 반응속도는 7.66 $\text{mg/L} \cdot \text{hr}$ 이고 nitrite의 반응속도는 11.89 $\text{mg/L} \cdot \text{hr}$ 였다. 26시간 이후의 가장 높은 총질소 제거율은 88%로서 1.00 :

Table 3. Evaluation of the reaction rates for both substrates in batch test

	1.00:0.85	1.00:1.00	1.00:1.15	1.00:1.30	1.00:1.45
$\text{KNH}_4(\text{mg/L} \cdot \text{hr})$	5.37	5.92	7.21	7.66	7.51
$\text{KNO}_2(\text{mg/L} \cdot \text{hr})$	7.8	8.67	10.34	11.89	10.87

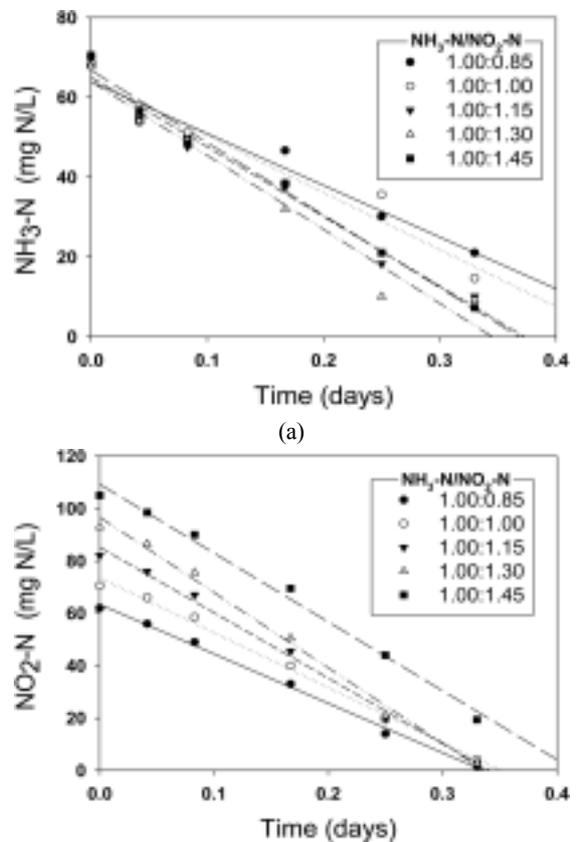


Fig. 3. The anammox reaction rates at different $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}$ ratio.

1.30의 비에서 나타났다. 이 제거율은 식 (1)에서 제시된 혐기성 암모늄산화균의 이론적 총질소 제거효율과 거의 동일한 수치이다. 다른 NH₃-N/NO₂-N 비율에서의 총질소 제거율은 이보다 다소 낮은 71.5~83.1%로 나타났다. 따라서 총질소 제거효율과 ammonium과 nitrite의 가장 빠른 반응속도를 기준으로 볼 때, 1.00 : 1.30의 NH₃-N/NO₂-N비가 최적의 비율이라고 제안할 수 있다(Fig. 4).

가스 발생량에 근거하여 계산된 SAA(specific anammox activity)는 Fig. 5와 같이 나타났다. ammonium과 nitrate 비에 따른 SAA 수치가 큰 차이를 나타내지는 않았지만, NH₃-N/NO₂-N의 비가 1.00:1.15일 때 가장 높은 수치를 기록했다(Table 4). 1.00 : 1.15에서 SAA가 가장 높게 나타난 것은 nitrite의 축적 가능성을 낮춤과 동시에 잔류 암모니아 농도를 낮게 유지할 수 있는 범위에 해당하는 것이기 때문에 사료된다. 비록 이론상 최적 NH₃-N/NO₂-N비가 1.00 : 1.32라 할지라도 이론적 비보다 낮은 nitrite 농도가 유지되어야 보다 안전하게 반응기 안의 nitrite 축적을 예방할 수 있으며, 이를 통해 Anammox 반응의 저해를 최소화할 수 있을 것으로 판단된다.

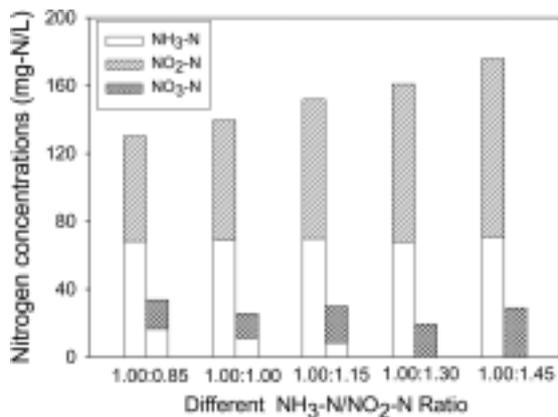


Fig. 4. Total nitrogen concentration of beginning and final in the anaerobic batch test.

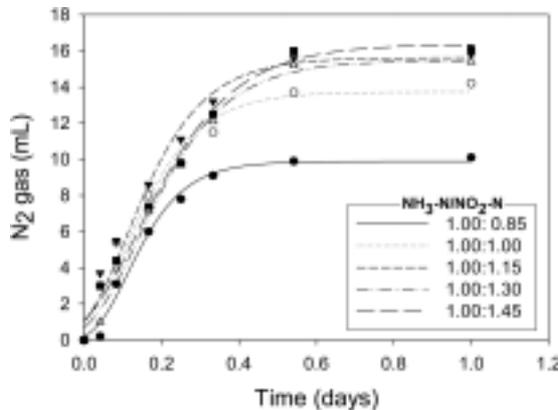


Fig. 5. Gas production plotting by modified gompertz equation at different NH₃-N/NO₂-N ratio in the anaerobic batch test. legends of measured gas production: ●: 0.85, ○: 1.00, △: 1.15, ■: 1.30, ▼: 1.45.

Table 4. Evaluation of the specific anammox activities at different NH₃-N/NO₂-N ratio in batch test

	1.00:0.85	1.00:1.00	1.00:1.15	1.00:1.30	1.00:1.45
SAA (gN ₂ -N/gVSS/day)	0.30	0.32	0.35	0.31	0.29

4. 결론

다섯 가지의 NH₃-N/NO₂-N비를 가진 회분식 실험의 총질소 제거효율, SAA평가, 반응 속도상수 결과를 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Anammox activity 관점에서 보면, NH₃-N/NO₂-N비 1.00 : 1.15에서 0.35 gN₂-N/gVSS/day으로 가장 큰 값을 나타내었고, 1.00 : 1.30의 비율에서는 가장 높은 총질소 제거효율인 88%를 나타내었다. 이는 유입수내 NH₃-N/NO₂-N비가 이론적 반응비와 가까울수록 높은 총질소 제거효율을 나타낼 수 있지만 Anammox bacteria의 활성도를 높게 유지하기 위해서는 이론적 NH₃-N/NO₂-N비보다 낮은 비율이 더 적합하다는 것을 나타냈다.
- 2) Anammox 반응이 0차 반응으로 나타났고, 1.00 : 1.30의 NH₃-N/NO₂-N비에서 ammonium과 nitrite 둘 다 가장 빠른 속도로 반응이 진행됨을 알 수 있었다.
- 3) 잔류하는 nitrite의 농도의 축적 가능성과 cell activity를 고려할 경우 NH₃-N/NO₂-N비 1.00 : 1.15 또는 이보다 낮은 때가 혐기성 암모늄 산화반응에 적합할 것으로 판단된다.

사사

본 연구는 환경부 차세대 핵심환경기술개발과제인 “혐기성 암모늄 산화균을 이용한 반류수 및 양돈폐수의 비용절감형 질소제거시스템 개발(연구책임자 KIST 정진영)”의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Windey, K., De Bo, I., and Verstraete, W., “Oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification(OLAND) in a rotating biological contactor treating high-salinity wastewater,” *Water Res.*, **39**, 4512~4520(2005).
2. Tsushima, I., Ogasawara, Y., Kindaichi, T., Satoh, H., and Okabe, S., “Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing(anammox) biofilm reactors,” *Water Res.*, **41**, 1623~1634(2007).
3. Wouter R.L., van der Stara, Wiebe R. Abmab, Dennis Blommersc, Jan-Willem Mulderc, Takaaki Tokutomid, Marc Strouse, Cristian Picioreanua, Mark C.M., and van Loosdrechta, “Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox

- reactor in Rotterdam,” *Water Res.*, **41**, 4149~4163(2007).
4. Fux, C., Marchesi, V., Brunner, I., and Siegrist, H., “Anaerobic ammonium oxidation of ammonium-rich waste streams in fixed-bed reactors,” *Water Sci. Technol.*, **49** (11-12), 77~82(2004).
 5. Imajo, U., Tokutomi, T., and Furukawa, K., “Granulation of Anammox microorganisms in up-flow reactors,” *Water Sci. Technol.*, **49**(5) 155~164(2004).
 6. Güven, D., van de Pas-Schoonen, Katinka, S., Markus C., Strous, Marc, Jetten, Mike S. M., Sözen, Seval, Orhon, Derin, and Schmidt, Ingo, “Implementation of the Anammox Process for Improved Nitrogen Removal,” *Environ. Sci. and Heal. Part A*, **39**(7) 1729~1738(2004).
 7. Strous, M., van Gerven, E., Kuenen, J.G. and Jetten, M., “Ammonium removal from concentrated waste streams with the Anaerobic Ammonium Oxidation(Anammox) process in different reactor configurations,” *Water Res.*, **31**(8), 1955~1962(1997).
 8. Ahn, Y.-H., Hwang, I.-S., and Min, K.-S., “ANAMMOX and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste,” *Water Sci. Technol.*, **49**(5), 145~154(2004).
 9. Güven, M., Dapena, A., Kartal, B., Schmid, M.C., Mass, B., van de Pas-Schoonen, K., Sozen, S., Mendez, R., Op den Camp, H., Jetten, S.M., Strous, M., and Schmidt, I., “Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 1066~1071(2005).
 10. Miyoko W., Takaaki T., Hiroshi Y., and Yasuo T., “Nitrogen removal from animal waste treatment water by anammox enrichment,” *Bioresour. Technol.*, **98**(14), 2774~2780(2006).
 11. Tsushima, I., Ogasawara, Y., Kindaichi, T., Satoh, H., and Okabe, S., “Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing(anammox) biofilm reactors,” *Water Res.*, **41**, 1623~1634(2007).
 12. Dopena-Mora, A., Fernandez, I., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Mendez, R., Jetten, M.S.M., “Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production,” *Enzyme. Microb. Technol.*, **40**, 859~865(2007).
 13. Kim, I., Lee, H.H., Chung, Y.C., and Jung, J.Y., “Comparison of nitrogen removal performances in biofilm and granule anammox(anaerobic ammonium oxidation) processes,” 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestion, Brisbane, Australia(2007).
 14. Buys, B.R., Mosquera-Corral, A., Sanchew, M., and Mendez, R., “Development and application of a denitrification test based on gas production,” *Water Sci. Technol.*, **41**, 113~120(2000).
 15. Dapena-Mora, A., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Jetten, M.S.M., and Mendez, R., “Stability of the Anamox process in a gas-lift reactor and a SBR,” *J. Biotechnol.*, **110**, 159~170(2004a).
 16. Lay, J.-J., Lee, Y.-J., and Noike, T., “Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste,” *Water Res.*, **33**(11), 2579~2586(1999).