

최 중  
연구보고서

# 고효율 생물학적 방법에 의한 축산폐수의 고도처리와 처리부산물의 활용기술 개발

Studies on high-rate biological advanced swine  
wastewaters and recovery of treatment by-products

선 문 대 학 교

농 립 부

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “고효율 생물학적 방법에 의한 축산폐수의 고도처리와 처리 부산물의 활용 기술개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 7 월 30 일

주관연구기관명 : 선문대학교  
총괄연구책임자 : 김 종 수  
세부연구책임자 : 김 종 수  
협동연구기관명 : 충북대학교  
협동연구책임자 : 사 동 민  
협동연구기관명 : 천안외국어대학  
협동연구책임자 : 안 기 섭

# 요 약 문

## I. 제 목

고효율 생물학적 방법에 의한 축산폐수의 고도처리와 처리 부산물의 활용 기술개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

축산 분·뇨는 특성상 생활하수보다 고농도 오염물질(유기물질과 영양염류인 질소, 인 등)을 포함하고 있으므로 토양으로 환원의 경우에는 자원의 가치가 높은 반면 유출시 수질오염 영향이 크고 민원 발생이 예측되므로 환경보전 측면에서 적절한 처리와 관리 대책이 시급한 형편이다. 이에 따라 정부는 축산 분·뇨 처리의 기본방향으로 수용 가능한 범위 내에서 최대한 퇴비화·액비화의 자원화 이용을 촉진하고 불가피하게 발생하는 축산폐수는 공공처리시설 및 개별처리시설을 이용하여 안전하게 처리하는 것을 채택하고 있다. 그러나 축산폐수 처리시설의 방류수수질기준은 맑은물공급종합대책이 도시근교 뿐만 아니라 축산농가가 많이 입지하는 농촌 지역에도 강화될 것이 예상되므로 효율적인 축산폐수 처리시설의 개발, 실용화가 시급한 과제이다. 따라서 본 연구·기술개발 과제는 불가피하게 발생하는 축산폐수를 고효율 생물학적 방법에 의하여 고도처리 하여 방류수수질기준을 만족하고 처리 과정에서 발생하는 부산물을 재활용하는 기술을 개발하고자 제안되었다.

우리나라의 축산 농가는 대부분 영세한 규모로서 소비지인 대도시 외곽의 하천 주변에 위치하고 있어 축산 농가로부터 발생하는 고농도의 축산 폐수는 제대로 처리되지 않는 상태로 하천에 유입되어 수질 악화의 주요인이 되고 있으며, 특히 질소와 인에 의한 호소 부영양화가 문제시 되고 있다. 그러나 우리나라에서는 질소와 인에 대한 배출 규제가 본격적으로 시작된 기간이 짧고, 지금까지 질소와 인의 제거보다는 통상적으로 BOD, COD, SS등에 관심을 두고 처리해 왔기 때문에 하·폐수중의 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 광합성 세균은 영양 요구도가 다른 미생물보다 단순하고 혐기, 호기, 및 명·암조건의 어떠한 환경에서도 산소의 확산 속도에 관계없이 활

발히 생육할 수 있으며, 활발한 운동성을 가지고 있고 유기 물질의 섭취 속도가 높은 특성을 가지고 있다. 그러므로 본 연구에서는 국내에서 많이 배출되는 양돈 폐수를 이용하여 생물학적 질소 비료를 생산하기 위하여 우수 균주 선발, 배양 후 균체를 접종하여 상추를 재배 후 그 효과를 검정 하고자 한다.

고효율 생물학적 방법에 의한 축산폐수의 처리는 암모니아에 내성인 혐기성 미생물을 분리, 배양, 성장하는 이단 혼합형 혐기성 소화반응기를 사용하는 공정과 부산물인 메탄을 효율적으로 발생하여 이용하도록 하고 이단 혼합형 혐기성 소화반응기의 유출수내 함유된 영양염류인 질소와 인 제거를 광합성 세균에 의하여 고도처리하면서 광합성 세균의 균체를 미생물비료 혹은 고급상토의 재료로서 활용을 검토하였다. 이단 혼합형 혐기성 소화공정은 최근 연구·개발되는 혐기성 소화공정인 UASB(Upflow anaerobic sludge blanket)와 AF(Anaerobic filter)의 장점을 살려 개량한 혼합형을 (Hybrid) 이단화한 (Two-stage) 공정이며 암모니아에 내성인 혐기성 미생물을 분리 배양하여 미생물의 농도를 높게 유지함으로써 높은 유기물부하에서 효율적 분해를 가능하게 하고 암모니아에 의한 저해작용을 감소시켜 공정의 안정성을 도모하는 고효율의 처리공정으로 처리부산물로서 대체에너지인 메탄을 활용할 수 있다. 이단 혼합형 혐기성 소화공정에서 처리된 축산폐수는 영양염류인 질소·인을 함유하고 있으므로 최근 각광을 받고 있는 조류인 광합성세균의 다량 배양에 의하여 영양염류를 제거하도록 하고자 한다. 광합성 세균은 고단백질의 함량이 높으므로 영양학적, 위생학적 문제가 해결되면 고부가 가치의 사료 및 식품첨가제로 활용 가능하나 본 연구에서는 미생물비료 혹은 고급 상토의 재료로서 활용하고자 한다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

축산(양돈)농가를 선정하여 축산폐수의 발생량과 특성을 사계절을 포함하는 연간 조사하도록 하여 고효율 이단 혼합형 혐기성 소화공정 그리고 영양염류인 질소·인 제거를 위한 조류인 광합성세균의 배양에 대한 연구와 기술개발에 응용한다.

이단 혼합형 혐기성 소화공정에 대한 연구개발에서는 Lab-scale 혐기성 소화 반응기를 (10 L) 제작하여 축산폐수를 사용하여 수리학적체류시간 1일 그리고 유기물부하  $10 \sim 20 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$ 까지 정상운전 함으로서 유기물의 분해정도와 메탄 발생량, 반응기에 충전 되는 미디어의 종류 및 깊이의 최적화, 이단화에 의한 혐기성

소화공정을 최적화 등을 확립하도록 한다. Lab-scale에서 얻어진 자료에 의하여 약 1,000두 규모의 양돈농가에서 발생하는 축산폐수를 처리하기 위한 system을 (10 m<sup>3</sup>/d) 설계하고 최종 3차 년도에는 질소·인제거의 생물학적 방법과 같이 현장에 설치하여 시운전 및 정상운전이 되도록 하고 기업으로 하여금 실용화할 수 있는 기반을 조성하도록 한다.

암모니아 내성 메탄균의 분리 및 대량배양 연구에서는 하수종말처리장, 축산폐수공동처리장, 축산농가 등을 방문 혐기성 미생물을 스크린하고 배양기에 의하여 혐기성 미생물의 생육조건 확립, 암모니아의 혐기성 미생물에 대한 독성/저해 기작 및 정도를 분석하고 암모니아 내성 메탄균을 분리 선발하도록 한다. 선발된 암모니아 내성 메탄균을 Master Culture Reactor(MCR)에 의하여 대량 배양하여 현장의 이단 혼합형 혐기성 소화반응기에 투입하여 공정에 응용하도록 한다.

생물비료용 cyanobacteria을 선발하기 위하여 충북 지역의 비옥 토양, 농업용수 등에서 시료를 채취하였다. 질소 고정 unicellular와 filamentous cyanobacteria 탐색 및 분리·배양은 균주가 광합성을 할 수 있는 독립 영양균인 특성을 감안하여 탄소원이 전혀 포함되지 않고 약간의 무기염과 미량의 mineral이 포함되어 있는 배지(변형된 BG-II)를 이용하였다. 채취한 시료는 질소원이 제한된 고체 배지에 도말 한 후 형광등 조명을 이용하여 30℃에서 순수 배양을 시켰으며, 이 과정을 수차례 반복하였다. 선발된 균주의 동정은 colony 형태, morphological 특성, cell, size, 성장 속도 등을 비교하는 방법 등으로 시도하였다. 분리 균주를 자연광을 이용하여 3 L과 15 L reactor에서 1차 정화된 2차 폐수 원액 또는 2배 희석하여 선발균주의 최적배양 실험을 수행했다. 균체 배양은 제 1 세부과제에서 1차 정화된 폐수를 멸균하지 않은 상태로 배양액으로 사용하였고, air의 공급을 위해 배양기의 외부에 유량이 air pump를 설치하고, 배양기의 유속량을 각각 조절하였다. 균체의 배양시 pH의 조절, 완충용액의 효과, 폭기량의 차이에 따른 각각의 균체 생육상태를 조사하였다. 또한, 배양균주의 효과를 검정하기 위한 작물로 재배 기간이 비교적 짧으며 비교적 낮은 온도에서도 잘 자라는 상추 [품종: 청치마 상추(가덕면), 뚝섬 적축면 상추(신촌동)]를 선정 재배하여 미생물 접종효과를 검정하였다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

축산폐수의 효율적 처리와 최적 메탄 발생을 위하여 lab-scale 이단 혼합형 ASBF system의 구성에 있어서 이단화와 filter media에 대한 영향을 분석한 결과 이단화에 의한 상분리의 경우 COD 제거효율은 증가되었으며 과부하에 의한 실제의 경우 회복율이 빨랐으며 Pall ring을 1/2채운 ASBF반응기가 가장 우수한 처리효율을 보였다. 축산폐수 처리를 위한 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 full-scale 이단 혼합형 ASBF system에 대한 설계자료는 다음과 같다. 이단 ASBF system에 유입될 축산폐수의 T-N(NH<sub>3</sub>-N) 제거는 필수적이며 T-N이 제거된 축산폐수의 발생량을 10 m<sup>3</sup>/d, 특성은 COD 10,000 mg/L, SS 500 mg/L, T-N 360 mg/L, 그리고 T-P 60 mg/L로 산정하고 HRT를 1일로 하고 OLR를 10 kgCOD/m<sup>3</sup>·d으로 한다면 각 단의 ASBF 혐기성 소화 반응기는 5 m<sup>3</sup>으로 산출된다. COD 제거율을 80%로 환산하면 제거된 COD 기준 biogas 발생량은 59 m<sup>3</sup>/d로 산정되며 메탄으로 환산하면 41 m<sup>3</sup>/d가 된다. 축산폐수를 효율적으로 처리하고 최적 메탄을 발생할 수 있는 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 현장용 이단 혼합형 ASBF system에 대한 설계 자료를 확보, 제작하고 현장에 설치하였다. 그러나 대량 배양된 암모니아 내성 혐기성 미생물과 축산폐수공동처리장 혐기성 소화조의 슬러지를 식중독 뒤 약 2개월에 걸쳐 시운전을 하였으나 혐기성 미생물은 아직도 순화단계에 있으며 정상 운전까지는 몇 개월이 더 소요될 것으로 판단된다. 본 연구개발사업이 종료되는 시점에 우리나라의 축산업은 대부분 전업 혹은 대기업 규모로 전환될 것이며 개발되는 이단 혼합형 ASBF system을 전업규모의 축산농가에 알맞게 package화 함으로서 발생하는 메탄가스의 효과적인 이용을 제고할 것으로 전망된다. 참고로, 우리나라의 육우와 양돈시설에서 배출되는 축산폐수 총 발생량은 7.3x10<sup>7</sup> m<sup>3</sup>/년 그리고 유기물 오염부하량은 1.35x10<sup>9</sup> kgCOD/년에 달한다. 혐기성 소화에 의하여 COD가 전부 메탄화 된다면(1 kgCOD = 0.25 kgCH<sub>4</sub>) 메탄발생량은 3.36x10<sup>8</sup> kgCH<sub>4</sub>/년이며 비교적 규모가 큰 전업규모 양돈농가의 경우(돼지 약 1,000두로서 축산폐수 발생량은 10 m<sup>3</sup>/d 그리고 축산폐수의 농도는 18.4 kgCOD/m<sup>3</sup>로서 COD 제거율 70%) 메탄 발생량은 51.5 m<sup>3</sup>/일이며 에너지로 환산하면 440,000 kcal/일로서 반응조를 가열하는데 필요한 에너지를 제외하면 200,000 kcal/일의 잉여에너지를 생산하게 된다. 이와같이 이단 혼합형 ASBF system은 적극 권장되어야 할 것이다. 처리용량 10 m<sup>3</sup>/d의 실증규모 이단 혼합

형 ASBF system은 수리학적 체류시간 1일과 유기물부하량  $10 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$ 에서 운전되므로 기존의 어떠한 혐기성 소화공정 보다는 우수하다는 것이 입증될 것으로 판단된다. 이러한 system에 대한 시장성은 충분한 것으로 사료된다.

혐기성 소화에서 미생물에 저해/독성 물질로 알려진 암모니아의 농도와 식종원에 따른 영향을 MCR (Master Culture Reactor)을 이용하여 회분식으로 분석하였다. 식종원은 축산농가 축산폐수 집수조의 침전슬러지 그리고 하수종말처리장 혐기성 소화조 잉여슬러지를 사용하였다. 식종원에 상관없이 암모니아는  $1,500 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ 에서 COD 제거율과 가스생성율로 측정된 혐기성 미생물의 활성에 저해영향을 주기 시작하여  $2,500 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ 에서 더욱 심하였다. 암모니아 저해 농도 범위에서 휘발성 유기산의 농도는  $50 \text{ mg/L}$  범위로 유지되므로 메탄 생성균 뿐만 아니라 산생성균도 저해영향을 받는 것으로 나타났다. 축산폐수 집수조 침전 슬러지로 식종된 경우 암모니아  $2,500 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$  농도 범위 이상으로 운전하여도 COD 제거율과 가스생성율은 일정하게 나타났지만 하수종말처리장 혐기성 소화조 잉여슬러지로 식종된 경우 암모니아 농도가 증가할수록 COD 제거율과 가스생성율은 감소하였다. 결과적으로 암모니아에 장기간 순응된 축산폐수 집수조의 침전슬러지로 식종한 경우 암모니아의 저해 농도에 대하여 적응도 빨랐으며 저해영향도 적음을 알 수 있었다.

다양한 시료로부터 위에서 설명한 방법에 따라 무질소, 무탄소 영양상태에서 생육이 가능한 균주를 2차 선별하여 균주의 형태와 크기 및 현미경 관찰 (heterocyst의 유무, 위치, trichome의 모양 및 길이, 분자의 유무)을 통하여 동정한 결과 filamentous form의 cyanobacteria 18종 (Genus : *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Sytonema*, *Cylindrosprum*, *Hepalosiphon*) 및 unicellular form cyanobacteria 2종 (Genus : *Syneochoccus*, *Gleothece*)으로 나타났다. 균주의 생육에 따른 배지 내 인산 흡수능은 생육이 좋은 균주에서 높은 제거율을 보였고, 특히 *Nostoc* HN601, HN701 및 *Anabaena* HA 701은 배양 초기  $5.3 \text{ mg/L}$ 에서 배양 후 12일에 거의 100%로 급속히 제거하였고 이때 흡수속도는  $0.44 \text{ mg/L/day}$ 로 인산의 흡수능이 매우 우수한 것으로 나타났다. 분리·배양 균주 (*Nostoc* HN601)를 이식할 때 처리한 뒤 상추를 수확하여 지상부 전체의 무게, 포기둘레, 그리고 단위 잎 면적 당 무게 등을 조사하였다. 가덕면 포장에서나 신촌동 포장에서나 동일한 방법으로 조사하였는데, 제재처리에 따라서는 상추의 생육에 미치는 영향도 달라지는 것으로 나타났다. 조사 항목 중 특히 지상부의 전



체의 무게에 있어서 처리에 따른 생육량의 변화가 심했다. 제재 처리구의 상추 한 포기 당 평균 무게 조사에서는 무처리와 비교하여 처리 구에서 5 ~ 7%의 생육 증진 효과를 볼 수 있었다. 이와 같은 결과로 본 실험에서 분리한 균주를 이용하여 미생물제제로 사용하였을 때 화학 비료를 대체할 생물학적 비료로써의 효능이 인정되었으며 향후 대량생산을 통하여 친환경적 농자재로써의 발전이 기대되었다.

# SUMMARY

## I. Title

High-rate biological advanced treatment of swine wastewaters and recovery of treatment by-products

## II. Objectives and Importances

The livestock wastes and wastewaters contain high concentrations of organic matter and nutrients, such as (ammonia) nitrogen and phosphorous. Proper management of livestock wastes and wastewaters is necessary because of their nutritive characteristics that can be returned to land after proper treatment and potential contribution to water pollution after discharged to environment without treatment. Government initiated a livestock wastes and wastewaters management program to be (1) promotion of resources recovery as much as possible, such as composting and liquid fertilization, (2) effectively treatment of wastewaters, that are unavoidably generated, at public and private treatment facilities. However, treatment of livestock wastes and wastewaters is not an easy task due to high concentrations of pollutants and more stringent effluent regulations that are formulated for livestock wastewater treatment facilities under Clean Water Act. It is urgent to develop best available technologies for livestock wastewaters and to eventually make them available to farmers. Therefore the current proposal is proposed to develop a high-rate biological advanced treatment technology of swine wastewaters for meeting effluent standards and for recovery of treatment by-products.

The swine wastewaters constitute a permanent source of pollution and it is released into the environment, provoking serious pollution problems. Aerobic digestion is a process for waste treatment in which, as in other systems, excessive volumes of treated effluents that do not fulfill the regulatory

biochemical requirements are allowed to pour into water-bodies. However, swinewastes, in particular, can be used as a substrate for microalgae and cyanobacterial growth after a stabilization treatment by aeration or anaerobic digestion has applied. This makes it possible to obtain a final effluent of an acceptable quality to be used for various purposes.

The proposed high-rate biological advanced treatment technology consists of basically two parts: (1) development of a two-stage hybrid ASBF(anaerobic sludge blanket filter) system which effectively treats swine wastewaters with high ammonia by using ammonia-adapted anaerobic microorganisms and produce  $\text{CH}_4$ (methane) as a by-product that can be used as an alternative biogas. The two-stage hybrid ASBF system is a hybrid of UASB(Upflow anaerobic sludge blanket) and AF(Anaerobic filter) that are currently used in anaerobic treatment of high concentrations of organic matter. The system is effective in separating acidogenic and methanogenic bacteria by using two bioreactors and in accumulating anaerobic biomass in the bioreactors by using suspended and attached culture. The phase separation and high biomass concentration in the bioreactors ensure effective treatment of BOD/COD and production of biogas. (2) effluent of two-stage hybrid ASBF system is further treated by photosynthetic algal biomass which is effective in assimilation of nutrients. The effluent of the algal biomass treatment may be able to meet effluent standards on N and P. The algal biomass that are harvested can be used as a biofertilizer.

### III. Scope and Contents

The generation rate and characteristics of swine wastewaters from livestock (specially pig farm) farms are monitored throughout year in order to provide background information on research and developing technology for two-stage hybrid ASBF system, isolation of ammonia-resistant anaerobic microorganism and its mass production, and removal of nutrients and utilization of biomass as a biofertilizer.

In developing two-stage hybrid ASBF system, lab-scale 10-L hybrid ASBF bioreactors were operated at HRT of 1 day and OLR of  $10 \sim 20 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$  for more than 300 days in order to establish the effects of operating conditions for effective treatment of swine wastewaters. Based on the data obtained from lab-scale bioreactor, a full-scale  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  system for a farm raising 1,000 pig head was designed and installed at field. The system is under trial operation for steady-state operation. The results of the full-scale operation would provide basic technical information on developing a swine wastewater treatment system at enterprise level for mass production.

In isolation and mass production of ammonia-resistant anaerobic microorganism, anaerobic microorganism were collected and screened from public swine wastewater treatment plant, sewage treatment plant, and pig raising farms. The anaerobic microorganism, specially methanogens, were tested for physiological growth conditions and tendency of ammonia-resistant by MCR(Master culture reactor). The ammonia-resistant methanogens were screened and produced in mass using a  $1 \text{ m}^3$  FRP tank for inoculation at full-scale ASBF bioreactors.

The effluent of two-stage hybrid ASBF bioreactors was subjected to photosynthetic cyanobacteria which are capable of assimilating N and P. The cyanobacteria that were collected and screened were evaluated for assimilating capacity of nutrients. Algal treatment of wastewater, mediated through a combination of nutrient uptake, elevated pH, and high dissolved oxygen concentration, can offer an ecologically safe, less expensive, and more efficient means to remove nutrients and metal than conventional treatment. These benefits can be achieved with little or no use of chemical additives and, furthermore, may offer the benefit of resource recovery and recycling. To achieve the desired level of treatment with algal systems, maximizing autotrophic production is of primary importance, and basic principles of algal mass culture must be applied, particularly the need to effectively harvest the algal biomass in order to remove the sequestered nutrient. The largest body of information on how to accomplish acceptable levels of wastewater

treatment with algal is available for suspended algal systems.

## IV. Results and Suggestions for Field Applications

The results on the effects of staging and filter media on the performance of lab-scale two-stage hybrid ASBF bioreactors in treating swine wastewaters at HRT of 1 day and OLR at  $2 \sim 10 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$  are (1) the COD removal efficiency was increased by phase separation using two-stage bioreactors, (2) ASBF bioreactor with upper half full of pall ring showed best COD removal efficiency, and (3) two-stage hybrid ASBF bioreactor with half full pall ring showed best recovery from a failure by overload of organics. The design criteria of  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  full-scale two-stage hybrid ASBF system are as follows : (1) Influent characteristics : COD = 10,000 mg/L, SS = 5000 mg/L, T-N = 360 mg/L, T-P = 60 mg/L after MAP reaction and sedimentation, (2) Operating conditions : HRT = 1 day, OLR =  $10 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$ , (3) Volume of each ASBF bioreactor =  $5 \text{ m}^3$ , (4) Biogas generation rate =  $59 \text{ m}^3/\text{d}$  with 80% COD removal, (5)  $\text{CH}_4$  gas generation rate =  $41 \text{ m}^3/\text{d}$  with 80% COD removal. The full-scale  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  two-stage hybrid ASBF system was designed and constructed at field (pig farm). The ASBF bioreactors were inoculated with mass produced ammonia-resistant anaerobic microorganisms. however the system was not operated normally even after 2-months start-up operation. It may require at least 6- ~ 12-months for a steady-state normal operation. When the system is approved to be effective in treating swine wastewater and producing biogas as expected, it will be designed as a small package system for pig farms.

The influence of ammonia and the sources of seeding on anaerobic digestion were investigated by batch operation of MCR(master culture reactor). The sources of seeding on anaerobic digestion were from swine wastewater collection pit and anaerobic digestion sludge of a municipal sewage treatment plant. The inhibition effects of ammonia on anaerobic

microorganisms were initiated at ammonia concentration of 1,500 mgNH<sub>4</sub>-N/L, whose effects were increased by increasing ammonia concentration upto 2,500 mgNH<sub>4</sub>-N/L regardless the sources of seeding as evidenced by decreasing in COD removal efficiencies and biogas yields. The inhibition occurred to not only methanogens but also acidogens since the concentration of volatile fatty acids was maintained at 50 mg/L during the batch operations of MCR. The COD removal efficiency and the biogas yield were constantly maintained while increasing ammonia concentration upto 2,500 mgNH<sub>4</sub>-N/L when swine wastewater collection pit was used as seeding; however, those were decreased while increasing ammonia concentration when anaerobic digestion sludge was used as seeding. The results indicate that the seeding acclimated to high concentrations of ammonia for long time was easy in adaptation to high ammonia concentration and less subjective to ammonia inhibitory effects.

Photosynthentic filamentous cyanobacteria(*Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Sytonema*, *Cylindrosprum* and *Hepalosiphon*), which have high nitrogen and phosphate uptake activity, were isolated from composts and soils around Chung-buk province to develop new procedure to recycle swine waste water after first filtration and to develop it as biofertilizer. Pigment contents, nitrogen and phosphorus concentration in the isolates growing pattern under different sources and concentrations of nitrogen and nitrogen and phosphate uptake rate were compared to select suitable isolate for nitrogen and phosphorus removal. *Nostoc* HN601 and *Anabaena* HA 701 showed highest nitrogen and phosphate uptake rate not only in BG-11 medium but also in swine waste water. Optimum initial pH of this microorganism growing was pH 8.0 and buffering system was not required for *Nostoc* HN 601 in bioreactor under green house condition. After three week growing of *Nostoc* HN 601 in bioreactor, the nitrogen and phosphorous concentrations in swine waste water were decreased by 80 per cent, the nitrogen and phosphorous concentration of microorganisms were 61.1 mg-N/GDW and 13.3 mg-P/GDW, respectively, which are enough high concentrations to use this microorganism as biofertilizer. Cyanobacterial mass production using swine waste water

under natural light condition might be suitable for recycling and cleaning of swine waste water and these cell might be suitable for development of biofertilizer due to their high nitrogen and phosphorus content. Inoculation of cyanobacteria to Lettuce plant increase biomass and specific leaf weight, which showed these microalgae could be used for biofertilizer which substitute for chemical fertilizer and these results represent the basic knowledge for development of biofertilizer in economic way for eco-friendly farming.

# CONTENTS

SUMMARY (Korea)-----	i
SUMMARY (English)-----	vii
Contents (English)-----	xiii
Contents (Korea)-----	xv
List of Tables-----	xviii
List of Figures-----	xx
Chapter 1. Introduction-----	1
Section 1. Objectives and Contents-----	1
1. Objectives-----	1
2. Contents Scope-----	4
Section 2. Annual objectives and contents-----	7
Chapter 2. International technical development trends-----	8
Section 1. Two-stage hybrid ASBF system-----	8
Section 2. Isolation and mass production of ammonia-resistant anaerobic microorganism-----	11
Section 3. Removal of nutrients and utilization of biomass as a biofertilizer-----	12
Chapter 3. Development of two-stage hybrid ASBF system-----	17
Section 1. Experimental set-up and method-----	17
1. Characteristics of swine wastewaters-----	17
2. Optimization of lab-scale anaerobic bioreactors-----	17
3. Full-scale two-stage hybrid ASBF system-----	26
Section 2. Results and discussion-----	27
1. Characteristics of swine wastewaters-----	27
2. Optimization of lab-scale anaerobic bioreactors-----	29
3. Full-scale two-stage hybrid ASBF system-----	53



Section 3. Conclusions-----	75
Chapter 4. Isolation and mass production of ammonia-resistant anaerobic microorganism-----	78
Section 1. Isolation of ammonia-resistant anaerobic microorganism-----	79
Section 2. Characterization and determination of growth conditions for ammonia-resistant anaerobic microorganisms-----	84
Section 3. Influence of ammonia on anaerobic microorganism-----	86
Section 4. Mass production of ammonia-resistant anaerobic microorganism-----	87
Section 5. Conclusions-----	88
Chapter 5. Removal of nutrients and utilization of biomass as a biofertilizer-----	89
Section 1. Introduction-----	89
Section 2. Experimental set-up and methods-----	90
Section 3. Results and discussions-----	94
Section 4. Conclusions-----	110
Chapter 6. Technical achievements and contributions -----	111
Chapter 7. Field application plans of the results -----	115
Chapter 8. Technical information obtained during R&D -----	117
Chapter 9. References-----	127

# 목 차

요약문-----	i
SUMMARY-----	vii
영문목차-----	xiii
국문목차-----	xv
표 목차-----	xviii
그림 목차-----	xx
제 1 장 연구개발 과제 of 개요-----	1
제 1 절 연구개발의 목표 및 내용-----	1
1. 연구개발의 목표-----	1
2. 연구개발 내용 및 범위-----	4
제 2 절 연차별 연구개발 내용 및 범위-----	7
제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황-----	8
제 1 절 이단 혼합형 ASBF system에 대한 기술-----	8
제 2 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 대량배양-----	11
제 3 절 생물학적 N,P 제거 및 균체 이용방안-----	12
제 3 장 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 개발-----	17
제 1 절 실험장치 및 방법-----	17
1. 축산폐수의 발생량과 특성-----	17
2. Lab-scale 혐기성 소화공정의 구성과 최적화 연구-----	17
가. 미디어 종류 및 깊이 그리고 이단화에 따른 소화공정의 최적화-----	17
나. 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 최적화-----	21
3. Full-scale 이단 혼합형 ASBF system에 대한 연구-----	26
제 2 절 결과 및 고찰-----	27
1. 축산폐수의 발생량과 특성-----	27
2. Lab-scale 혐기성 소화공정의 구성과 최적화 연구-----	29
가. 이단화와 filter media에 대한 영향-----	29
나. Lab-scale 이단 혼합형 ASBF 생물반응기 공정의 최적화-----	32
1) 인공폐수에 의한 고유기물 부하에서 이단 혼합형 ASBF	

생물반응기의 성능-----	32
가) 혐기성 미생물의 환경조건-----	32
나) 유기물질 제거 효율-----	33
다) 혐기성 미생물에 대한 영양염류-----	37
라) Biogas production-----	40
마) 생물 반응기내 Biomass의 보유능력-----	40
2) Lab-scale 이단 혼합형 ASBF 생물반응기의 축산폐수에	
응용-----	43
가) 혐기성 미생물의 환경조건-----	43
나) 축산폐수의 유기물질 제거 효율-----	44
다) 혐기성 미생물에 대한 영양염류-----	48
라) Biogas production-----	49
마) 생물반응기내 Biomass 보유능력-----	51
바) 이단 혼합형 ASBF 생물반응기의 유입수에 대한	
성능비교-----	51
3. Full-scale 이단 혼합형 ASBF system-----	53
가. 암모니아 제거와 막분리 공정-----	54
나. Full-scale(실증용) 이단 혼합형 ASBF system-----	56
1) 이단 혼합형 ASBF system의 설계-----	56
2) System의 제작 및 시운전-----	69
제 3 절 결론-----	75
제 4 장 암모니아 내성 혐기성미생물의 분리 및 대량배양-----	78
제 1 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리-----	79
1. 실험장치 및 방법-----	79
2. 분석방법-----	81
3. 혐기성 미생물의 MCR 반응기에서의 적응-----	81
제 2 절 혐기성 미생물의 생리적 특성 및 생육조건 확립-----	84
1. 정상상태에서 암모니아 농도에 따른 영향-----	84
2. 혐기성 미생물의 생육조건-----	85
제 3 절 암모니아 내성 혐기성 미생물에 대한 독성/저해	
영향 분석-----	86
제 4 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 대량 배양-----	87
제 5 절 결론-----	88

제 5 장 생물학적 N,P 제거 및 균체 이용방안-----	89
제 1 절 서론-----	89
제 2 절 실험 장치 및 방법-----	90
제 3 절 결과 및 고찰-----	94
제 4 절 결론-----	110
제 6 장 목표달성 및 관련 분야 기여도-----	111
제 7 장 연구개발 결과의 활용 계획-----	115
제 8 장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학 기술정보-----	117
제 9 장 참고문헌-----	127

## 표 목차 (List of Table)

Table 1-1. General characteristics of different types of wastewaters(WW)-----	1
Table 1-2. Characteristics of swine wastewaters collected form 27 pig farms-----	2
Table 1-3. Discharge limitations for public swine wastewater treatment plants-----	3
Table 3-1. Characteristics of filter media used in filter bioreactors-----	18
Table 3-2. Operational strategies for anaerobic bioreactors-----	20
Table 3-3. Characteristics of swine wastewater used as an influent of filter bioreactors-----	21
Table 3-4. Composition of nutrient/mineral/buffer(N/M/B) medium-----	24
Table 3-5. Characteristics of swine wastewaters used as an influent of lab-scale two-stage ASBF bioreactors collected from A-San city's public swine wastewater treatment plant-----	24
Table 3-6. Influent characteristics of two-stage ASBF-C bioreactor--	25
Table 3-7. Influent characteristics of two-stage ASBF-SW bioreactor--	25
Table 3-8. General characteristics of swine wastewaters sampled from 27 pig farmers during July 2000 - May 2001-----	28
Table 3-9. Performance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state conditions-----	37
Table 3-10. Perfomance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state conditions-----	46
Table 3-11. Performance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state condition-----	52
Table 3-12. Monitoring 10 m <sup>3</sup> /d full-scale two stage hybrid ASBF system during the 2 months of start-up operation-----	74
Table 4-1. Composition of Nutrient/Mineral/Buffer (N/M/B) medium----	80
Table 4-2. Comparison of operational parameters of MCR-1 and -2 after addition of ammonia to reactors before and after adaptation on ammonia-----	85

Table 4-3. Performance comparison of MCR-1 and -2 after addition of ammonia to reactors before and after adaptation on ammonia---	86
Table 5-1. Effect of carbon source on nitrogenase activity of <i>Nostoc</i> HN601 isolated from rice field-----	98
Table 5-2. Effect of carbon source on nitrogenase activity of <i>Anabaena</i> HA701 isolated from rice field-----	98
Table 5-3. Effect of nitrogen source on nitrogenase activity of <i>Nostoc</i> HN601 isolated from rice field-----	99
Table 5-4. Effect of nitrogen source on nitrogenase activity of <i>Anabaena</i> HA701 isolated from rice field-----	99
Table 5-5. Comparison of total nitrogen and phosphorus content in cyanobacteria isolated from paddy soil-----	100
Table 5-6. 논 토양에서 분리한 <i>Anabaena sp.</i> 와 <i>Nostoc sp.</i> 의 Chlorophyll 함량의 경시적 변화-----	101
Table 5-7. 국내 논 토양에서 분리한 <i>Anabaena</i> 와 <i>Nostoc</i> 의 생육 배지의 인산농도 변화-----	102
Table 5-8. 국내 논 토양에서 분리한 <i>Anabaena</i> 와 <i>Nostoc</i> 의 생육 배지의 질산농도 변화-----	103
Table 5-9. <i>Nostoc</i> HN601의 생육에 미치는 pH의 영향-----	104
Table 5-10. <i>Nostoc</i> HN601의 배지 인산제거에 미치는 pH의 영향-----	104
Table 5-11. <i>Nostoc</i> HN601의 질소 제거에 미치는 pH의 영향-----	104
Table 5-12. 미생물 처리에 따른 상추의 지상부 무게(g)와 상추의 잎 100cm <sup>2</sup> 당 무게 (g)-----	109
Table 6-1. 세부과제별 목표 달성 내용 달성도-----	112

## 그림 목차 (List of Figures)

Figure 1-1. Conceptual schematics of biological advanced treatment system and recovery system of treatment by-products-----	3
Figure 3-1. Schematics of lab-scale anaerobic bioreactors-----	19
Figure 3-2. Schematics of lab-scale two-stage ASBF bioreactors-----	22
Figure 3-3. COD removal efficiency of lab-scale anaerobic bioreactor-----	30
Figure 3-4. Effluent pH and alkalinity of lab-scale anaerobic bioreactors-----	30
Figure 3-5. Effluent T-N of lab-scale anaerobic bioreactors-----	31
Figure 3-6. Effluent T-P of lab-scale anaerobic bioreactors-----	31
Figure 3-7. Effluent pH and alkalinity since the start-up operation-----	33
Figure 3-8. Effluent COD concentration since the start-up operation-----	34
Figure 3-9. Effluent COD removal efficiency since the start-up operation-----	34
Figure 3-10. Effluent VFAs concentration since the start-up operation-----	36
Figure 3-11. Steady-state COD removal efficiency at different OLRs-----	36
Figure 3-12. Effluent TKN concentration since the start-up operation-----	38
Figure 3-13. Effluent T-P concentration since the start-up operation-----	38
Figure 3-14. Cumulative gas production & CH <sub>4</sub> composition since the start-up operation-----	39
Figure 3-15. Effluent TSS & VSS concentration since the start-up operation-----	42
Figure 3-16. Steady-state COD profile throughout bioreactor height at different OLRs-----	42
Figure 3-17. Effluent pH and Alkalinity since the start-up operation-----	43
Figure 3-18. Effluent COD concentration since the start-up operation-----	45

Figure 3-19. Effluent COD removal efficiency since the start-up operation-----	45
Figure 3-20. Effluent VFAs concentration since the start-up operation-----	47
Figure 3-21. Steady-state COD removal efficiency at different OLRs--	47
Figure 3-22. Effluent TKN concentration since the start-up operation-----	48
Figure 3-23. Effluent T-P concentration since the start-up operation-----	49
Figure 3-24. Cumulative gas production & CH <sub>4</sub> composition since the start-up operation-----	50
Figure 3-25. Effluent TSS/VSS concentration since the start-up operation-----	51
Figure 3-26. TCF-10 ultrafiltration system to fractionate organic matter in swine wastewaters based on size(molecular weight cut-off)-----	55
Figure 3-27. Size distributions based on molecular weight cut-off of organic matter in swine wastewaters of two-stage ASBF bioreactors-----	55
Figure 3-28. Conceptual schematics of two-stage ASBF system with ammonia removal pretreatment and membrane process for effluent polishing -----	56
Figure 3-29. Flow sheet of two-stage ASBF system-----	57
Figure 3-30. PID of two-stage ASBF system-----	58
Figure 3-31. Electrical diagram of two-stage ASBF system-----	59
Figure 3-32. Design of V-notch of two-stage ASBF system-----	60
Figure 3-33. Design of flocculation tank of two-stage ASBF system--	61
Figure 3-34. Design of precipitation tank of two-stage ASBF system--	62
Figure 3-35. Design of heat exchanger of two-stage ASBF system-----	63
Figure 3-36. Design of 1st anaerobic bioreactor of two-stage ASBF system-----	64
Figure 3-37. Design of 2nd anaerobic bioreactor of two-stage ASBF system-----	65
Figure 3-38. Design of holding tank for MF of two-stage ASBF system-----	66



Figure 3-39. Design of holding tank for NF of two-stage ASBF system-----	67
Figure 3-40. Design of nanofiltration of full scale two-stage ASBF system-----	68
Figure 3-41. View of pig farm and two-stage ASBF system in containment-----	70
Figure 3-42. Front part of two-stage ASBF system (From right, reaction tank with 2 chemical tanks with pumps, sedimentation tank, heater exchanger)-----	70
Figure 3-43. Detailed pictures of front part of two-stage ASBF system (From bottom to top : reaction tank with two chemical tanks with pump, sedimentation tank, and pre heater tank)-----	71
Figure 3-44. Two-stage ASBF bioreactors with two mono pumps and control system-----	72
Figure 3-45. NF membrane system with control panel-----	73
Figure 4-1. Configuration of master culture reactor(MCR)-----	80
Figure 4-2. Patterns of COD removal and gas production during adaptation on batch operation of MCR-1-----	82
Figure 4-3. Patterns of COD removal and gas production during adaptation on batch operation of MCR-2-----	83
Figure 4-4. Patterns of COD removal and gas production after addition of ammonia to MCR at steady-state operations-----	84
Figure 4-5. Mixed Bioreactor(1 m <sup>3</sup> ) made from FRP-----	87
Figure 5-1. 공기 주입량이 <i>Nostoc</i> HN601 생육시 폐액의 질소 제거에 미치는 영향 (2L 배양, 1차 여과 원액)-----	105
Figure 5-2. 공기 주입량이 <i>Nostoc</i> HN601 생육시 폐액의 질소 제거에 미치는 영향 (9L 배양, 1차 여과 원액)-----	106
Figure 5-3. 공기 주입량이 <i>Nostoc</i> HN601 생육시 회석 폐액(2배)의 질소 제거에 미치는 영향 (1.5L 배양, 1차 여과 2배 회석액)-----	107
Figure 5-4. 공기 주입량이 <i>Nostoc</i> HN601 생육시 회석 폐액(2배)의 질소 제거에 미치는 영향 (7L 배양, 1차 여과 2배 회석액)-----	108

# 제 1 장 연구개발 과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 목표

생활수준의 향상과 식생활의 변화로 인한 축산물 소비량은 지속적으로 증가되고 있으며 이에 따른 가축 사육두수는 1997년 말 기준 소는 3,279천두, 돼지는 7,096천두로 꾸준한 증가추세에 있으며 이러한 가축사육으로 발생하는 축산폐수 발생량은 (축분 20%, 뇨와 세정수 포함) 200천 m<sup>3</sup>/일에 (Table 1-1) 이르고 있다. 폐수 총 발생량에 비교하여 축산폐수 발생량은 0.9%에 불과하지만 오염부하량은 BOD기준으로 15.1%인 1,000천 kg/일로 지하수와 지표수의 유기물에 의한 오염과 질소·인에 의한 부영양화의 촉진 그리고 악취에 의한 민원 발생이 예측되므로 환경보전 측면에서 적절한 처리와 관리 대책이 시급한 실정이다.

축산 분·뇨는 특성상 생활하수보다 오염부하량이 높은 고농도 오염물질을 포함하고 있으므로 토양으로 환원의 경우에는 자원의 가치가 높은 반면 유출시 수질오염 영향이 크고 적정처리에 애로가 있다. 이에 따라 정부는 축산 분·뇨 처리의 기본방향으로 수용 가능한 범위 내에서 최대한 퇴비화·액비화의 자원화 이용을 촉진하고 불가피하게 발생하는 축산폐수는 공공처리시설 및 개별처리시설을 이용하여 안전하게 처리하는 것을 채택하고 있다. 본 연구팀이 조사한 축산(양돈)폐수의 특성

Table 1-1. General characteristics of different types of wastewaters(WW)

	Source of Pollution	Generation Rate (1,000 m <sup>3</sup> /day)	BOD Loading Rate (1,000 kg/day)
Municipal WW	Population 46.4 Million	16,272(76.2%)	2,962(44.7%)
Industrial WW	Industry 28,000 Plants	4,874(22.8%)	2,661(40.2%)
Swine WW	10,375,000 Heads (Cow 3,280,000 Pigs 7,095,000)	200(0.9%)	1,000(15.1%)
Total	-	21,346(100%)	6,623(100%)

Table 1-2. Characteristics of swine wastewaters collected form 27 pig farms

Parameters	Concentration (mg/L)	
	Average	Range for 27 Samples
pH	8.4	7.5 - 9.4
SS	5,870	870 - 11,200
BOD	8,600	2,230 - 25,800
COD	18,360	7,970 - 43,850
Total Organic Carbon (TOC)	7,190	1,440 - 14,590
Volatile Fatty Acids (VFA)	10,100	1,850 - 22,500
Total Nitrogen (T-N)	2,430	650 - 5,370
Ammonia Nitrogen (NH <sub>4</sub> -N)	2,250	630 - 4,700
Total Phosphate (T-P)	350	150 - 610
Al	6	2 - 18
Ca	180	54 - 320
Cu	5	1 - 17
Fe	14	6 - 27
Mg	21	2 - 54
Mn	2	1 - 3
Zn	12	4 - 28

All parameters, except SS, were analyzed after filtration on GF/C filter

은 Table 1-2에 나타나 있는 바와 같이 고농도의 유기물 (BOD 혹은 COD로 표현) 뿐만 아니라 SS, 영양염류인 질소·인을 함유하고 있다. 이러한 특성의 축산폐수에 대하여 그 관리기술의 미비함은 축산폐수가 환경오염의 원인으로 작용하여 축산업의 사활이 걸려 있을 정도로 심각한 실정이다.

2000년 1월부터 실시되는 축산폐수 처리시설의 방류수 수질기준은 Table 1-3과 같으며 맑은물공급종합대책이 도시근교 뿐만 아니라 축산농가가 많이 입지하는 농촌지역에도 강화될 것이 예상되므로 효율적인 축산폐수 처리시설의 개발, 실용화가 시급한 과제이다. 따라서 본 연구·기술개발 과제는 불가피하게 발생하는 **축산폐수를 고효율 생물학적 방법에 의하여 처리하여 방류수 수질기준을 만족하도록 하고 처리과정에서 발생하는 부산물을 재활용하는 기술을 개발하고자** 제안되었다. 고효율 생물학적 방법은 이단 혼합형 혐기성 소화공정과 영양염류인 질소와 인 제거의 연속 처리방법으로 그림 1에 도시하였다. 이단 혼합형 혐기성 소화공정

Table 1-3. Discharge limitations for public swine wastewater treatment plants

Parameters (mg/L)	Public Treatment Plants	Private Treatment Plants		
		Permit Size	Report Size	Below Report
BOD	30	150 (50)	350 (150)	-
COD	50	-	-	-
SS	30	150 (50)	350 (150)	-
T-N	60	- (260)	-	-
T-P	8	- (50)	-	-

( ) : Limits for special zone for preservation of water quality

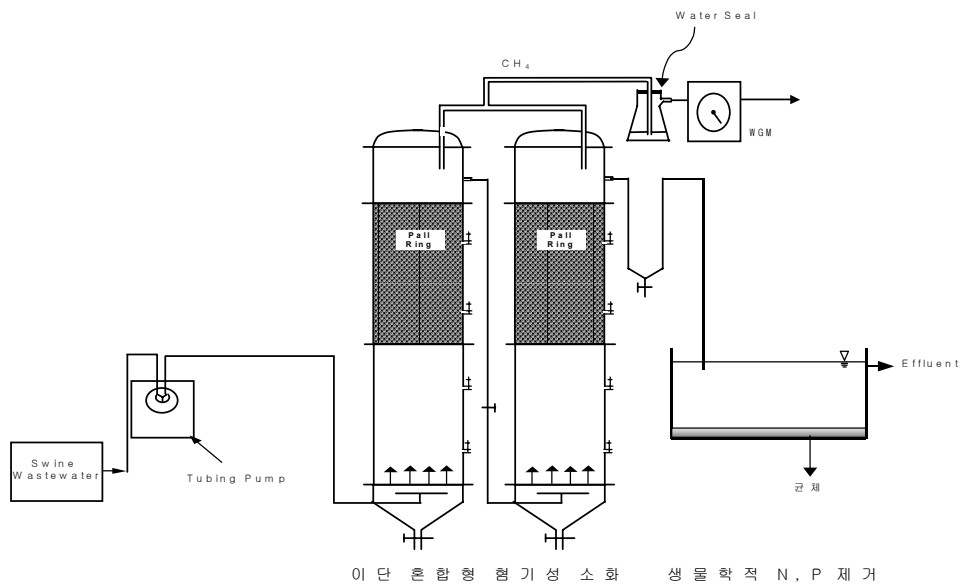


Figure 1-1. Conceptual schematics of biological advanced treatment system and recovery system of treatment by-products

은 최근 연구·개발되는 혐기성 소화공정인 UASB와 (Upflow anaerobic sludge blanket) AF (Anaerobic filter)의 장점을 살려 개량한 혼합형을 (Hybrid) 이단화한 (Two-stage) 공정이며 암모니아에 내성인 혐기성 미생물을 분리 배양하여 미생물의 농도를 높게 유지함으로써 높은 유기물부하에서 효율적 분해를 가능하게 하고 암모니아에 의한 저해작용을 감소시켜 공정의 안정성을 도모하는 고효율의 처리공정으로 처리부산물로서 대체에너지인 메탄을 활용할 수 있다. 이단 혼합형 혐기성 소화공정에서 처리된 축산폐수는 영양염류인 질소·인을 함유하고 있으므로 최근 각광을 받고 있는 조류인 광합성세균의 다량 배양에 의하여 영양염류를 제거하도록 하고자 한다. 광합성 세균은 고단백질의 함량이 높으므로 영양학적, 위생학적 문제가 해결되면 고부가 가치의 사료 및 식품첨가제로 활용 가능하나 본 연구에서는 미생물비료 혹은 고급 상토의 재료로서 활용하고자 한다.

## 2. 연구개발 내용 및 범위

축산(양돈)농가를 선정하여 축산폐수의 발생량과 특성을 사계절을 포함하는 연간 조사하도록 하여 고효율 이단 혼합형 혐기성 소화공정 그리고 영양염류인 질소·인 제거를 위한 조류인 광합성세균의 배양에 대한 연구와 기술개발에 응용한다.

이단 혼합형 혐기성 소화공정에 대한 연구개발에서는 Lab-scale 혐기성 소화 반응기를 (10 L) 제작하여 축산폐수를 사용하여 수리학적체류시간 1일 그리고 유기물부하 10 - 20 kgCOD/m<sup>3</sup>·d까지 정상운전 함으로서 유기물의 분해정도와 메탄 발생량, 반응기에 충전 되는 미디어의 종류 및 깊이의 최적화, 이단화에 의한 혐기성 소화공정을 최적화 등을 확립하도록 한다. Lab-scale에서 얻어진 자료에 의하여 약 1,000두 규모의 양돈농가에서 발생하는 축산폐수를 처리하기 위한 system을 (10 m<sup>3</sup>/d) 설계하고 최종 3차 년도에는 질소·인제거의 생물학적 방법과 같이 현장에 설치하여 시운전 및 정상운전이 되도록 하고 기업으로 하여금 실용화할 수 있는 기반을 조성하도록 한다.

암모니아 내성 메탄생성균의 분리 및 대량배양 연구에서는 하수종말처리장, 축산폐수공동처리장, 축산농가 등을 방문 혐기성 미생물을 스크린하고 배양기에 의하여 혐기성 미생물의 생육조건 확립, 암모니아의 혐기성 미생물에 대한 독성/저해기작 및 정도를 분석하고 암모니아 내성 메탄생성균을 분리 선발하도록 한다. 선발된 암모니아 내성 메탄생성균을 Master Culture Reactor(MCR)에 의하여 대량 배양하여 이단 혼합형 혐기성 소화공정에 투입하여 공정에 응용하도록 한다.

지금까지 양돈 폐수는 분과 뇨를 분리하여 별도로 처리하고 있다. 분의 경우는 호기성 소화, 혐기성 소화, 퇴비화 등의 방법으로 처리되고 있으며 뇨의 경우는 유기물과 질소, 인의 함유량이 높아 호기적으로 처리하기 위해서는 다량의 희석수가 필요하기 때문에 혐기성 소화 또는 연속 회분식 반응조를 이용하여 처리되고 있다. 그러나, 이러한 방법들은 처리기간이 길고 운전이 경제적, 기술적 부담을 고려하지 않을 수 없다. 하·폐수중의 질소와 인의 제거에는 생물학적, 생물·화학적 그리고 물리적 방법이 있으나, 근래에 세계적 추세는 처리 단가가 비교적 낮으며 2차 오염물이 될 수 있는 슬러지의 발생이 적은 생물학적 처리, 또는 생물학적 처리와 화학적 처리를 병행하는 경향이 있다. 선진 외국에서는 유기물과 부유 물질 같은 보편적인 오염 물질들에 대한 제거는 오래 전 상당히 이루어졌으므로, 다음 단계로 영양염류의 효과적인 제거에 관심이 모아지고 있다.

한편, 광합성 세균은 다른 미생물과 달리 여러 조건에서 고농도의 유기물을 이용할 수 있어 고농도 유기성 폐수 처리에 이용이 가능할 뿐만 아니라, 생성된 슬러지는 사료 및 비료로서의 가치가 높아 사료, 토양 개량제, 유기질 비료 등으로 재활용이 가능한 장점을 가지고 있어 최근 새로운 생물학적 폐수 처리 공법으로 주목을 받고 있다.

세계적으로 여러 나라에서 cyanobacteria가 생물비료로 사용되어 200만 ha 이상의 논을 비옥하게 만든다고 보고되어 있다. 몇몇 배 재배 국가에서 수많은 cyanobacteria 균주가 연못과 탱크에서 단독 또는 혼합되어 자란 후 건조되어, 논토양에 널리 투여되어 왔다. 생물학적 비료로서 사용하기 위해서 생체(100 kg/ha) 또는 건조된(10 kg/ha) cyanobacteria가 모내기 후 간단히 논 토양에 처리되면 그곳에서 cyanobacteria는 자라면서 질소를 고정하게 된다. 생물학적 비료로 흔히 사용되는 cyanobacteria 균주는 *A. fertilissimas*, *Anabaena* sp., *Nostoc* sp., *Calothrix* sp., *Scytonema* sp., *Cylindrospermum* sp., *Gloeotrichia* sp.를 포함해서 광범위한 종이 이용되었다. 논에서 자라 건조된 *A. fertilissimas* 매트는 생물학적 비료로서 광범위하게 사용되었다. 질소와 인산은 모든 식물이 가장 많이 요구되는 다량 원소이다. 많은 energy가 요구되는 화학 질소 비료와 인산 비료의 사용을 줄이면 경제적인 효과와 더불어 최근에 비료 성분 유출에 따른 환경 친화적 영농 방법 개발에도 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

질소는 모든 식물이 가장 많이 요구하는 다량 원소이다. 많은 energy가 요구되는 화학 질소 비료의 사용을 줄이면 경제적인 효과와 더불어 최근에 비료성분

유출에 따른 환경친화적 영농방법 개발에도 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

그러므로 본 연구에서는 국내에서 많이 배출되는 양돈 폐수를 이용하여 생물학적 질소 비료를 생산하기 위하여 우수 균주 선발, 배양 후 균체를 접종하여 상추를 재배 후 그 효과를 검정 하고자 한다.

## 제 2 절 연차별 연구개발 내용 및 범위

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (2000 7. -2001.7)	· Lab-scale 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 설계, 제작, 운전조건 확립	· 자료 및 문헌조사 · 축산농가의 선정 및 축산폐수의 발생량과 특성분석 · Lab-scale 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 설계 및 제작 · 공정의 감시체제 확립 · 유기물의 분해 정도와 메탄발생량 조사
	· 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 특성규명	· 하수종말처리장 등으로부터 혐기성 미생물의 분리 · 혐기성 미생물의 생리적 특성 규명 · MCR 반응기에 의한 혐기성 미생물의 생육조건 확립
	· 영양염류(N,P) 흡수능이 우수한 광합성 세균분리 및 특성규명	· 토양, 퇴비로부터 광합성균(Cyanobacteria)의 2차분리 · 분리균주의 생리적 특성분석 · 분리균주의 양분 흡수 기작 규명 · 분리균주의 양분흡수 및 보유능력 분석
2차 년도 (2001.7 -2002.7)	· Lab-scale 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 최적화	· 미디어 종류 및 깊이에 따른 혐기성 소화공정의 최적화 · 이단화에 따른 혐기성 소화공정의 최적화 · 체류시간, 유기물부하에서 정상운전에 의한 공정 최적화 · 정상운전에 의한 10m <sup>3</sup> /d 규모 현장 시스템의 설계
	· 혐기성 미생물에 대한 암모니아 영향 및 대량 배양 기술 개발	· MCR 반응기에 의한 암모니아의 혐기성 미생물에 대한 독성/저해 영향 분석 · 대형 배양기에 의한 암모니아 내성 혐기성 미생물의 대량 배양 조건 확립
	· 축산폐수를 이용한 우량 균주 배양 system 개발	· 폐수이용 균주 대량 생산 최적 pH 조절 방안 연구 · 폐수이용 균주 대량 생산 위한 미량원소 첨가 효과 규명 · 폐수 N,P 완전 흡수를 위한 균체 처리량 설정 · 폐수량에 따른 균주 처리 시간 결정 · 축산폐수 이용 균주 배양기 제조
3차 년도 (2002.7 -2003.7)	· 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 실증	· 10m <sup>3</sup> /d 규모의 실증 Plant를 현장에 제작 · 대량 배양된 암모니아 내성 혐기성 미생물의 접종 · 실증 Plant의 시운전에 의한 정상운전 최적화 모색
	· 혐기성 미생물에 대한 암모니아 영향 및 대량 배양 기술 개발	· MCR 반응기에 의한 암모니아의 혐기성 미생물에 대한 독성/저해 영향 분석 · 대형 배양기에 의한 암모니아 내성 혐기성 미생물의 대량 배양 조건 확립
	· 대량 균주 회수 system 개발 및 균체의 비료화 응용 연구	· 축산폐수 이용 연속 균주 배양법 개발 · 균체의 효과적 회수 기술 개발 · 균체 이용 생물비료를 이용한 발아 및 생육점검



## 제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

### 제 1 절 이단 혼합형 ASBF system에 대한 기술

현재 많이 사용되는 축산분·뇨의 처리방법은 축사의 형태에 의존되고 있다. 슬러리 돈사와 같이 분·뇨가 혼합된 경우 퇴비화 혹은 액비화 등의 자원화가 이루어지고 있다. 스크래퍼(Scraper) 돈사와 같이 분·뇨가 분리되는 경우 그리고 슬러리(Slurry) 돈사에서 고액분리를 한 경우 일반적으로 분은 자원화 그리고 뇨와 세척수의 축산폐수는 개별 혹은 공동 처리시설에서 처리되어 진다. 자원화의 경우 수분조절제의 수급, 초지 및 경지 면적의 확보, 수요자와의 연계, 계절적 제한 요소 등의 문제점이 있으나 정부시책에 따라 처리방법의 개발과 응용은 효율적으로 진행되는 것으로 판단된다. 그러나, 불가피하게 발생하는 뇨와 세척수인 축산폐수의 경우 처리방법으로는 호기성 생물학적 방법인 활성오니법, 톱밥토양여과법, 산화구법과 회분식 활성오니법, 간이축산폐수정화조 그리고 물리화학적 방법인 전기분해법 등이 있다. 호기성 생물학적 방법은 현재 가장 많이 사용되고 있는 방법으로 설치와 운전이 비교적 쉬운 반면 다량의 회석수가 필요하고 슬러지가 많이 발생되며 폭기에 필요한 에너지의 소모가 있는 단점이 있다. 특히, 축산폐수의 유기성 오염물질은 산화되어 쓸모없이 변화되며 영양염류인 질소·인은 거의 제거되지 못하는 실정이므로 개선이 시급한 실정이다. 이러한 호기성 생물학적 방법과는 달리 최근 연구·개발되기 시작한 혐기성 소화공정은 회석수가 필요 없으며 슬러지의 발생이 적고 처리부산물로 메탄이 발생하는 장점이 있어 축산폐수의 개별처리시설 및 공동처리시설에 응용되고 있다. 1997년 말 현재 운영중이거나 시험가동 중인 12개소의 축산폐수공동처리장은 혐기성 소화공정을 기본으로 하는 BIMA 혹은 HAF 공법을 채택하고 있으나 여러 가지 문제점으로 인하여 방류수 수질기준을 만족하지 못하고 있으며 2005년까지 총 100 여 개소 설치계획을 전면 중단하고 있는 상태에 있다. 중요한 문제점으로는 설비적 측면에서 축산폐수 유기물 농도의 과소 평가에 의한 설비 용량부족 혹은 과부하 그리고 운전적 측면에서 온도유지와 (35°C 유지) 암모니아의 혐기성소화 관련 미생물에 대한 저해 작용이 있다.

혐기성 소화공정은 몇 그룹의 혐기성 미생물을 이용하여 폐수의 유기성 물질을 단계적으로 분해하여 최종 생성물로 메탄과 CO<sub>2</sub>의 가스를 발생하는 생물학적 폐수

처리 공정이다. 혐기성 미생물에 의한 유기물질의 대사반응은 대략 3단계를 거쳐서 메탄이 생성된다. 유기물질이 혐기성 소화공정에서 효과적으로 분해 되기 위하여 혐기성 미생물의 생육조건과 유기물의 특성이 중요하다. 혐기성 미생물의 적절한 생육조건은 pH 6.8-7.4의 좁은 범위, 온도는 중온 메탄균은 35°C 고온 메탄균은 55°C 정도, 그리고 여러 가지의 영양물질(N, P, trace elements)이 요구된다. 유기물의 혐기성 소화에 대한 연구는 당, 아세트산, 에탄올, 휘발성산 등의 쉽게 분해되는 유기물을 기질로 이용하였으며 혐기성 소화공정의 실용화에 있어서도 대부분 쉽게 분해 되는 유기물을 함유하는 산업폐수가(주정폐수, 전분폐수, 식품 및 음료폐수) 대부분이었다. 이러한 경우 메탄 생성균의 생육속도가 혐기성 소화반응의 병목이 되지만 쉽게 분해 되지 않는 유기물의 경우 제1단계인 가수분해 반응이 전체 대사반응의 병목 현상을 초래할 수 있으며 매립지 침출수의 혐기성 소화공정에서 장기간의 체류시간이 필요한 원인도 침출수의 유기물이 난분해성의 원인에 영향이 있는 것으로 보고 되고 있다. 혐기성 소화가 축산폐수에 적용되기 위하여 축산폐수의 특성에 적합하고 미생물 군간 상호 저해/상승작용을 할 수 있는 공정의 개발이 절실히 요구되고 있다. 따라서, 축산폐수를 혐기성 소화공정에 의한 효율적인 처리는 축산폐수의 특성분석과 혐기성 미생물에 대한 기초연구를 바탕으로 lab-scale 규모에서 공정에 대한 철저한 검증연구가 선행되어야 실용화될 수 있다.

국내의 경우 혐기성 소화공정은 분·뇨 혹은 하수슬러지의 처리를 위하여 이용되고 있으며 기술 개발과 이에 따른 설계는 대부분 외국의 기술을 답습하고 있으며 처리기술의 수준도 낮아 혐기성 소화에 의한 축산폐수처리에 대한 실적은 거의 없는 형편이다. 1960년대 농촌 생활개선을 위한 대체에너지 생산을 목적으로 농축산 폐기물로부터 메탄을 회수하는 혐기성 소화시설을 보급한 바 있으나, 기술(축산폐수 발생량의 과소와 독성물질인 암모니아의 영향)의 미비함으로 실효를 거두지 못하였다. 1970년대부터 하수종말처리시설이 본격적으로 보급된 이래 하수처리시설에서 생성되는 하수슬러지는 혐기성 소화에 의하여 안정화되고 있지만 외국의 표준이단 혐기성 소화시설 설계 자료를 답습하고 있으며 수리학적체류시간이 적어도 15일이 요구되어 시설규모가 크고 슬러지 혐기분해의 미비함으로 메탄의 회수 및 이용에는 많은 문제점으로 지적되고 있다. 1980년대부터 고농도의 유기물을 함유하는 산업폐수의 처리와 메탄의 이용을 목적으로 혐기성 소화공정의 중요성이 인정되기 시작하면서 실험실적 연구가 진행되고 있다. 대표적인 예로서 전분, 발효 및 제지폐수의 처리를 목적으로 실험실적 방법

에 의한 UASB 와 AF 등에 대한 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구의 결과로 (주)대우가 2,000톤/일의 유기성 폐수를(COD = 2,000 ~ 4,000 mg/L) 배출하는 전분폐수를 처리하기 위하여 100m<sup>3</sup> 규모의 UASB 혐기성 소화공정을 이용하는 DW Process를 개발하여 시운전에 있는 것으로 보고 되고 있다. DW Process는 호기성 생물학적 처리시설에 비교하여 68%의 처리 비용의 절감 효과를 얻었으며 이 경우 연간 약 770백만 원의 처리비용 절감을 예측하였다. 혐기성 소화공정을 고농도의 유기물뿐만 아니라 독성물질인 암모니아와 부유물질이 함유하는 축산 폐수에 응용하기 위한 연구는 농진청, 축산기술연구소, 에너지연구소, 건국대학교, 강원대학교, 충남대학교 등에서 최근 시작되고 있으며 선진국의 기술에 비교하여 아직껏 걸음마를 걷는 수준에 머물고 있다. 국내 기술로는 현대엔지니어링의 HAF 공법이 있으며 축산폐수공동처리장에 실용화되었으나 그 효율은 아직도 검증되지 않은 상태에 있다.

국외의 경우, 축산폐수의 처리효율이 높으며 메탄의 발생을 극대화할 수 있는 안정적인 혐기성 소화공정을 유지하기 위하여 공정의 반응기내에 혐기성 미생물의 생체량을(슬러지) 높은 농도로 유지할 수 있는 반응기의 적절한 선택이 요구되며 최근까지 개발된 혐기성 소화공정의 대표적인 공정은 미생물의 부착성장애 의한 방법으로 북미에서 개발된 AF공정 그리고 부상 슬러지 입상화에 의한 방법으로 유럽에서 개발된 UASB공정이 있으며 이 두 공정을 이용하여 full-scale로 실제 폐수에 적용되고 있다. 일반 산업폐수를 이용한 AF와 UASB 두 공정은 높은 유기물부하가 (0.2 ~ 20 kg-COD/m<sup>3</sup>-d) 가능하며 처리효율도 우수한 것으로 (75 ~ 95% COD 제거효율) 나타나고 있으나 AF공정의 경우 필터 미디어에 부착 성장한 미생물에 의한 막힘과 단류현상 그리고 UASB공정은 슬러지의 입상화와 상층부의 고·액·기 상의 분리의 어려운 단점 그리고 공정의 안정성 등과 같은 개선되어야 할 문제가 있는 것으로 평가되고 있다. 이러한 AF와 UASB 공정의 장·단점을 보완하는 두 공정을 복합한 혼합형 공정이 고안되어 연구단계에 있다. 이러한 혼합형 혐기성 소화공정에서 반응조 내에 높은 농도의 슬러지를 유지하기 위하여 슬러지 베드와 필터의 깊이 비율 그리고 필터 미디어의 형태 그리고 상향류 속도가 중요한 인자로 지적되고 있으나 이들의 공학적 기술로서 평가에는 미비한 실정이다. AF 와 ASBF 혐기성 소화공정은 연구단계에서 벗어난 기술 수준으로 미국과 유럽에서 널리 실용화되고 있는 공정이다. AF 공정은 주로 북미에서 The Badger Company의 CELOBIC Anaerobic Reactor,

Barcardi Corporation의 Anaerobic filter 그리고 SYDLO, Incorporated의 혐기성 소화조 등 그리고 UASB 공정은 유럽의(주로 The Netherland) Paques BV, Spaans BV 그리고 Heidemij BV 등이 Brand로 상용화되고 있는 예가 보고 되고 있다.

## 제 2 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리, 대량 배양 기술

유기성 폐수 처리를 위한 생물학적 공정에는 혐기성과 호기성 공정이 있으며 유기물질의 농도가 매우 높은 축산폐수는 산소 이전의 제한 때문에 호기성으로 처리되기가 어렵다. 따라서 이러한 폐수는 계획적으로 혐기성 반응에 의하여 처리하여야 한다. 혐기성 처리는 호기성에 비하여 긴 반응시간을 요하며 반응이 불안정하여 유기물질의 제거율이 다소 낮은 단점이 있지만, 고농도의 유기물질을 처리할 수 있고 반응 부산물로 가연성 기체(메탄)을 얻을 수 있는 장점이 있다. 그러나 관여 미생물의 느린 증식속도에 따라 적용기간이 길게 소요되고 질산화 과정이 불가능하며 악취가 발생하고 혐기성 미생물에 독성물질로 알려진 암모니아를 함유하고 있어 혐기성 소화공정의 불안정한 요인으로 작용하고 있다.

유기성 폐수에서 acetate 동화와 CO<sub>2</sub>의 고정으로부터 만들어지는 메탄의 생합성 과정은 아직까지 완전히 밝혀지지 않고 있으며 합성에 관여하는 metanogenic bacteria는 Archaeobacteria에 속하는 원핵미생물로서 종류가 다양하며 Eubacteria와 많은 차이점을 갖는 것으로 알려져 있다. 특히, 세포막의 지질 구성, 효소 그리고 전자 전달체가 상이하며 세포벽의 조성에서 metanogenic bacteria는 murein을 함유하고 있지 않다. 그러나, 그람염색에서는 G<sup>-</sup> 는 물론 G<sup>+</sup> 를 보여 복잡한 생리학적 특성을 보이고 있으며 암모니아에 대한 독성 및 내성의 상이함은 이러한 차이점에 기인하는 것으로 추측하고 있다.

Ahring과 그의 동료에 의한 메탄 생합성균에 대한 암모니아 저해영향 연구에 따르면 암모니아성 질소의 농도가 815 mg/L(as TAN)인 하수처리장 혐기성 소화조 슬러지와 2,420 mg/L(as TAN)인 돼지분뇨를 식중원으로 이용하여 식중원에 따른 암모니아(as TAN)의 영향을 비교한 결과, 하수종말처리장 혐기성 소화조의 슬러지를 식중원한 경우 암모니아성 질소의 농도가 730 ~ 4,990 mg/L(as TAN)로 증가할수록 저해영향이 증가하였고, 돼지분뇨를 식중원한 경우 605 ~ 3,075 mg/L(as TAN)로 암모니아의 농도가 증가하여도 큰 저해영향이 일어나지

않는다고 하였으며 식중원의 종류에 상관없이 메탄생성율은 암모니아의 농도가 증가할수록 서서히 감소한다고 보고하였다. Battersby와 Wilson은 보다 구체적으로 수십개의 유기화합물을 이용하여 혐소기 또는 니트로기를 함유하는 화합물은 메탄가스 발생을 저해하고 카르복실기나 수산기를 갖는 화합물은 쉽게 분해됨을 밝혔다. 예를 들면 cresol, chlorobenzoic acid, dimethyl phthalate 그리고 pyridine 같은 화합물은 쉽게 분해되지 않는다고 보고하였으나 이러한 유기물 분해능은 chemical-to-biomass ratio에 따라 상이함도 보고하였다.

국내에서도 Batch 혹은 실험실적 연구를 통하여 암모니아의 농도가 700 ~ 3000 mg/L 이면 메탄균에 독성을 나타내는 것으로 보고되고 있으나 메탄균의 혐기성 및 암모니아 독성으로 인한 연구의 어려움 때문에 활발한 연구가 되고 있지 않다. 그러나, 축산폐수로 인하여 하천의 수질악화 및 호소의 부영양화를 초래하여 상수원 및 농업용수를 오염시킬 뿐만 아니라 악취 및 해충 피해 등으로 쾌적한 생활 환경을 해치는 요인이 되고 있어 이 분야의 연구가 활성화 되어 지려고 한다.

### 제 3 절 생물학적 N,P 제거 및 균체 이용방안

각종 산업의 발달로 수반되는 환경 오염을 막기 위하여 방류수에 포함된 질소와 인의 규제가 강화되면서 조류를 이용한 산업 폐수, 축산 폐수, 도시하수에서 질소와 인의 제거를 위한 연구 및 기술 개발이 선진 외국에서는 활발히 수행되고 있다. 그러나 우리 나라에서는 질소와 인에 대한 배출 규제가 본격적으로 시작된 기간이 짧고, 지금까지 질소와 인의 제거보다는 통상적으로 BOD, COD, SS등에 관심을 두고 처리해 왔기 때문에 하·폐수중의 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

폐수에 포함된 질소와 인의 규제가 강화되면서 조류를 이용한 산업 폐수, 축산 폐수, 도시 하수, 지하수에서 질소와 인의 제거를 위한 연구 및 기술 개발이 선진 외국에서도 활발히 진행되고 있다. 또한 최근보고에 의하면 광합성능이 있는 미세조류를 이용한 폐수 처리의 장점은 첫째, 생태적 원칙을 이용한 방법이고, 둘째, 환경 친화적 이고, 셋째, 이차 오염을 발생시키지 않고, 넷째, 생성된 미세조류를 수거해 재 이용할 수 있는 장점을 가지고 있으나, 단점으로는 첫째, 세대시간이 길고, 둘째, 조류를 수거하는데 어려움과 비용이 많이 소모되고, 셋째,

빛이 필수적이고, 넷째, 조류의 농도가 낮고, 다섯째, 그들의 생리학적인연구가 많이 수행되지 않았다고 하였다. 양돈 폐수의 특성은 고농도의  $\text{NH}_4\text{-N}$ 을 함유하여 미생물이 쉽게 분해 할 수 없는 유기 물질의 함량이 높고 COD : BOD의 비율이 부적당하여 생물학적 폐수처리 과정에서 많은 단점을 가지고 있는 폐수 중 하나이다.  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도는 사육 방법과 축산 관리에 따라 차이가 있으나 약 2500 ~ 4500 mg/L 정도로서 저장 조건에 따라 총 질소량의 50 ~ 75 % 는 암모니아와 암모니움 상태로 용해되어 있으며, 폐수가 산성일 때는 암모니움 이온을 형성하고 알칼리성일 때는 암모니아 가스 상태로 혐기성 소화 공정에서 중요한 역할을 하고 있는 미생물에 저해 작용을 하게 된다. 3000 mg/L 이상의 고농도  $\text{NH}_4\text{-N}$ 은 독성을 나타내는 것으로 보고되고 있으며 일정 농도를 초과할 경우 산 생성균 보다는 메탄 생성균의 대사 경로에 치명적인 영향을 미치게 되고 4200 mg/L를 초과할 경우 메탄 생성균 뿐만 아니라 다른 혐기성 미생물들의 성장도 정지된다고 보고하고 있다.

또한 일본에서는 광합성 세균을 이용하여, BOD 10,000 ppm 이상의 고농도 유기성 폐수를 희석하지 않고 단시간 내에 처리함으로써 활성오니법에 비해 처리 장치가 소형화될 수 있고 부지, 건설비, 운전 경비등이 크게 절감될 수 있다고 보고하였으며, BOD 부하량의 변동에 따른 영향이 적고, 이용되는 미생물군의 생리적 특성이 비교적 단순하므로 운전 관리가 용이하며 악취가 발생하지 않는다는 장점이 있다고 보고하였다. 또한, 광합성 세균은 영양 요구성이 다른 미생물보다 단순하고 혐기, 호기, 및 명·암조건의 어떠한 환경에서도 산소의 확산 속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있으며, 활발한 운동성을 가지고 있고 유기 물질의 섭취 속도가 높은 특성을 가지고 있다.

광합성 세균 세포에는 색소체로(color pigment) 4종류(phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin, phycoerythrocyanin)가 있다. 이들 색소의 주된 역할은 빛 에너지를 흡수하여 화학 에너지로 바꾸는 것인데 cyanobacteria는 빛의 환경에 따라 피코 빌리좀(phycobilisome)의 조성을 바꿈으로서 열악한 환경에도 적응하는 것으로 보고되고 있다. 또한 대부분의 조류는 세포벽에 셀룰로스(cellulose), 펙틴(pectin), 다당류(poly-saccharide)등을 기본 물질로 하는 비교적 견고한 막을 가지고 있으며 점성의 차이가 큰 각종 점액성 고분자 물질을 분비하고 있으므로 어느 정도의 pH 변화에서도 완충능을 가지고있어서 특정한 환경에서도 세포체의 기능을 유지 할 수 있다. 그러나 우리나라에서는 이렇게 광범위

한 서식지와 환경 적응능이 우수한 조류를 이용한 폐액 내 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 또한 광합성 세균(cyanobacteria)은 다양한 토양조건 및 탄소의 영향하에서도 질소 고정능을 계속 가지고 있어서 연간 생태계에서 연간 3천 500만톤의 질소를 고정하여 토양의 비옥도 유지 및 증진에 큰 기여를 하고 있으며 온도, 염분 등에 내성이 있고 기타 균체에 비하여 고농도의 질소를 보유함으로써 국내에서도 화학비료를 대체할 생물비료로써 이용 가능성이 매우 높다. cyanobacteria에 의한 질소 고정은 토양의 유효 질소 함량을 늘여 적은 양의 화학비료로 작물 생산량을 늘릴 수 있는 방법이다. 몇몇 cyanobacteria종은 적은 양을 눈에 풀어놓아도 빠르게 번성하여 토양 비옥화의 주체가 된다. cyanobacteria가 암모니아와 적은 양의 질소를 함유한 polypeptide로 능동적인 성장을 하는 동안 고정된 산물의 대부분은 자기 분해와 부패를 통해 식물체가 이용할 수 있게 만들어지며, 탈질 작용에 의하여 결합된 질소를 잃어 평형을 이룬다. 1939년에 최초로 De는 일부 cyanobacteria가 논에서 능동적인 질소 고정3자의 역할을 하며, 그 결과 이들의 활성은 논 토양을 비옥하게 한다고 보고하였다. 이후 많은 질소고정 cyanobacteria가 분리되어 질소 고정에 의한 토양내의 질소함량이 증가됨이 확인되었으며, 수 세기동안 화학 질소 비료 없이 어떻게 벼가 자랄 수 있었는가를 설명할 수 있게 되었다. cyanobacteria는 외부의 환경변화 및 steress 에 내성이 강하고 적응력이 좋아 벼 농사를 비롯한 여러 작물 생산 체계에 생물학적 비료로써 이용 가능성이 매우 높다.

1939년에 최초로 De는 일부 Cyanobacteria는 논에서 능동적인 질소 고정3자의 역할을 하며, 그 결과 이들의 활성은 논 토양을 비옥하게 한다고 보고하였다. 이후 많은 질소고정 Cyanobacteria가 분리되어 질소 고정에 의한 토양 질소함유량 증가 가능성이 확인되었으며, 수 세기동안 화학 질소비료 없이 어떻게 벼가 자랄 수 있었는가를 설명할 수 있게 되었다. 몇몇 벼 재배 국가에서 수많은 Cyanobacteria균주는 연못과 탱크에서 단독 또는 몇 가지 균주가 조합을 이루며 생체(100kg/ha)Cyanobacteria가 모내기 후 간단히 논 토양에 처리되면 그곳에서 Cyanobacteria는 자라면서 질소를 고정하게 된다. Cyanobacteria균주는 생물학적 비료로 흔히 사용되는 *IA. fertilissimas*, *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, *Scytonema sp.*, *Cylindropermum sp.*, *Gloeotrichia sp.*,를 포함해서 광범위한 종이 이용되었다. 논에서 자라 건조된 *A. fertilissimas*매트는 생물학적 비료로서 광범위하게

사용되었다. 다른 예로서 토양의 성질에 따라 *A. fertilissimas*는 여러 다른 질소 고정 Cyanobacteria와 혼합 사용되어 새로운 토양조건에 적응하고 다양한 숙주 식물과 공생관계를 이루게 된다. 생물비료로 투입된 Cyanobacteria균주는 벼의 생육과 함께 증가한다. 생체증가량과 질소 고정능은 논 토양에서 계통형태와 환경, 토양조건에 따라 차이를 나타내며 비료(N과 P)사용량, 토양 pH, 온도, 빛과 논 토양에서 수분상태 등에 따라서 다양하게 나타난다. 질소 추적기술 사용으로 Cyanobacteria로부터 고정된 질소는 벼의 생육 중에 이용됨을 알 수 있었고 Cyanobacteria가 고정하는 질소의 40%는 60일 내에 벼에 의해서 이용되는 것으로 나타났다. 생물학적 비료로서 Cyanobacteria가 처리했을 때와 화학질소 비료  $30\text{kg ha}^{-1}$ 을 처리한 경우 쌀 수확량은 같다고 보고 되어 있으며, 몇몇 경우에 생물비료로서 Cyanobacteria처리가 화학 질소비료와 함께 투입되면  $20\sim 30\text{kg ha}^{-1}$ 의 화학 질소비료를 추가 처리된 경우와 견줄만한 효과를 나타내었다. 몇몇의 실험실내 또는 야외 실험에서 한가지 종류나 또는 몇몇 종이 혼합된 Cyanobacteria 생물 비료는 벼의 초장, 건물량, Chlorophyll a 함유량과 벼의 수확량을 증가시키는 것으로 보고되고 있다. 또한 양서류 *Azolla*는 Cyanobacterial *Anabena* sp.와 공생 공존하며 인도, 중국, 필리핀, 타이완과 같은 나라에서 논을 녹색 비료로서 널리 사용되고 있으며 연간 ha당 100kg의 질소를 공급하고 있는 것으로 알려져 있다. 화학적 방법에 의한 질소로부터 암모니아의 생성은 매우 많은 비용이 든다. 공생적인 Cyanobacteria의 생물 비료로써의 이점은 상대적으로 낮은 비용으로 생산 될 수 있다는 것이다. Cyanobacteria에 의한 질소 고정은 토양의 유효 질소 함량을 늘려 적은 량의 화학 비료 시비로 작물 생산량을 늘릴 수 있는 방법이다. Cyanobacteria는 외부의 환경 변화 및 stress에 내성이 강하고 적응력이 좋아 벼농사를 비롯한 여러 작물 생산체계에 생물학적 비료로써 이용 가능성이 매우 높다. 세계적으로 여러 나라에서 Cyanobacteria가 생물 비료로 사용되어 200만ha 이상의 논을 비옥하게 만든다고 보고되어 있다. 생물학적 비료로서 Cyanobacteria가 처리했을 때와 화학질소 비료  $30\text{kg ha}^{-1}$ 을 처리한 경우 쌀 수확량은 같다고 보고 되어 있으며, 몇몇 경우에 생물비료로서 Cyanobacteria처리가 화학 질소비료와 함께 투입되면  $20\sim 30\text{kg ha}^{-1}$ 의 화학 질소비료를 추가 처리된 경우와 견줄만한 효과를 나타내었다. 몇몇의 실험실내 또는 야외 실험에서 한가지 종류나 또는 몇몇 종이 혼합된 Cyanobacteria 생물 비료는 벼의 초장, 건물량, Chlorophyll a 함유량과 벼의 수확량을 증가시키는 것으로 보고되고 있다. 또한



양서류 *Azolla*는 Cyanobacterial *Anabena* sp.와 공생 공존하며 인도, 중국, 필리핀, 타이완과 같은 나라에서 논·녹색 비료로서 널리 사용되고 있으며 연간 ha 당 100kg의 질소를 공급하고 있는 것으로 알려져 있다. 화학적 방법에 의한 질소로부터 암모니아의 생성은 매우 많은 비용이 든다. 공생적인 Cyanobacteria의 생물 비료로서의 이점은 상대적으로 낮은 비용으로 생산될 수 있다는 것이다. Cyanobacteria에 의한 질소 고정으로 토양의 유효 질소 함량을 늘려 적은 양의 화학 비료 시비로 작물 생산량을 늘릴 수 있는 방법이다. Cyanobacteria는 외부의 환경 변화 및 stress에 내성이 강하고 적응력이 좋아 벼농사를 비롯한 여러 작물 생산체계에 생물학적 비료로써 이용 가능성이 매우 높다. 세계적으로 여러 나라에서 Cyanobacteria가 생물 비료로 사용되어 200만ha 이상의 논을 비옥하게 만든다고 보고되어 있다.

# 제 3 장 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 개발

## (제1세부과제 - 주관기관 선문대학교)

본 연구에서는 먼저 축산(양돈)농가를 선정하여 축산폐수의 발생량과 특성을 사계절을 포함하는 연간 조사하였으며 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 개발 연구에서는 Lab-scale 혐기성 소화 반응기를 (10-L) 제작하여 축산폐수를 사용하여 수리학적 체류시간 1일 그리고 유기물부하 10 ~ 20 kgCOD/m<sup>3</sup>·d까지 정상운전 함으로서 유기물의 분해정도와 메탄 발생량, 반응기에 충전 되는 미디어의 종류 및 깊이의 최적화, 이단화에 의한 혐기성 소화공정을 최적화 등을 확립하도록 하였다. Lab-scale에서 얻어진 자료에 의하여 약 1,000두 규모의 양돈농가에서 발생하는 축산폐수를 처리하기 위한 현장 system(10 m<sup>3</sup>/d)을 설계하고 현장에 설치하여 시운전 및 정상운전이 되도록 하고 기업으로 하여금 실용화할 수 있는 기반을 조성하도록 한다.

### 제 1 절 실험장치 및 방법

#### 1. 축산폐수의 발생량과 특성

충청남/북도의 축산(양돈)농가 중 전업/기업 규모(1,000 ~ 4,000 두)를 축협의 도움을 받아 27곳을 선정하여 형태별(스크레이프식 혹은 슬러리식)과 계절별(1 ~ 2월, 4 ~ 5월, 7 ~ 8월)로 축산폐수의 발생량과 시료를 채취, 특성을 분석하였다. 채취된 축산폐수 시료는 분석까지 냉장고에 보관하였고, 수질오염공정시험법과 Standard Methods에서 추천되는 방법에 따라 pH, alkalinity, SS, VSS, BOD, t(total)-COD, s(soluble)-COD, TOC, N(T-N, org-N), P(T-P, org-P), VFA(volatil fatty acids as acetate), 그리고 중금속을 분석하였다.

#### 2. Lab-scale 혐기성 소화공정의 구성과 최적화 연구

##### 가. 미디어 종류 및 깊이 그리고 이단화에 따른 소화공정의 최적화

축산폐수로부터 최적 메탄발생과 효율적 처리를 위한 혐기성 소화공정을 개

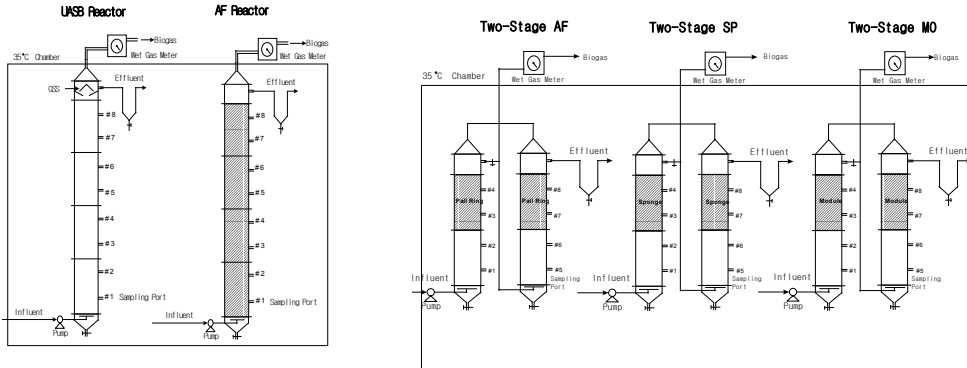
발할 목적으로 이단화와 filter media의 영향을 조사하기 위하여 Fig 3-1과 같이 3기의 lab-scale 이단 ASBF(anaerobic sludge blanket filter) 반응기와 2기의 단상 UASB(upflow anaerobic sludge blanket)와 AF(anaerobic filter) 반응기를 사용하였다. 이단 반응기는 원통형 아크릴로 제작되었으며 단면적이 63.6 cm<sup>2</sup> 높이가 60 cm로서 유효용량은 3.4 L이 되게 제작하였다. 이단화에 의한 혐기성 소화의 효율화를 분석하기 위하여 산형성의 일단 반응기의 유출수를 메탄형성조의 이단 반응기로 유입되도록 하였다. Filter media에 의한 혐기성 소화 영향을 분석하기 위하여 Table 3-1에 요약된 특성을 가진 pall ring(ASBF-PR), sponge(ASBF-SP), 그리고 module(ASBF-MO)의 3종류 filter media를 각단의 상부 유효부피의 1/2을 충전 하였다. 이단 ASBF 반응기의 성능과 비교하기 위하여 높이가 120 cm로 총 유효용량이 6.8 L이며 반응기 전체를 pall ring으로 충전한 단상의 AF와 filter media를 충전 하지 않은 단상의 UASB 반응기를 동시에 제작, 운전하도록 하였다. UASB 반응기는 biomass의 유실을 방지하기 위하여 반응기 상단에 고·액·기체 분리장치를 장착하였다.

반응기에 유입수의 주입은 peristaltic pump를 이용하여 일정유량으로 상향류가 되도록 하였으며 일단에서 이단으로의 흐름은 자연유하 방식을 이용하였다. 유입수 분배장치는 십자형의 아크릴관 하부 쪽에 구멍을 뚫어 반응기 전부분에 고르게 분포하도록 하였고, 반응조 높이 10 cm 간격으로 시료 채취구를 설치하였으며, 유출수 분석을 위한 시료채취는 역사이핀 하부 시료 채취구를 이용하였

Table 3-1. Characteristics of filter media used in filter bioreactors

	Specific Surface Area(m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> )	Porosity (%)	Pore Size (mm)	Shape
Pall Ring	210	95-98	5×15(25Φ)	random(2.54cmΦ×2.54cmH)
Sponge	800	96-98	4×4	random(0.4cmΦ)
Module	142	95	48×38(38Φ)	cross-flow(60. )

Figure 3-1. Schematics of lab-scale anaerobic bioreactros



다. 5기의 반응기는 35°C 항온조에서 연속적으로 운전되었다. 반응기로부터 발생하는 biogas는 가스포집기를 거쳐 wet gas meter로 발생량을 측정하였으며 biogas 조성 분석을 위한 시료의 채취는 유리관의 가스 포집장치를 이용하였다.

5기의 반응기에 혐기성 미생물 식종을 위하여 천안 하수종말처리장 혐기성 소화시설의 잉여 소화슬러지(SS 24.4 g/L, volatility 60 %)를 각 반응기에 2 L (이단의 경우 각단에 1 L)을 주입하였고 COD가 2,200 mg/L이 되도록 축산폐수를 수돗물과 희석하여 유량 13.6 L/d로 운전을 시작하였다. 결과적으로 식종 미생물에 대한 F/M비(food/microorganism ratio)는 0.024 kg-COD/kg-VSS · d, OLR은 1.1 kg-COD/m<sup>3</sup> · d로 운전하였으며 적응기간은 약 55일 정도 소요되었다. 식종 및 적응기간 이후 주어진 OLR에 대하여 COD 제거율이 60% 이상인 상태가 2주일 정도 지속되면 정상상태로 인정하고 축산폐수의 수돗물과 희석배율을 낮추어 COD 농도를 높게 하거나 유입수 유량을 높게 하여 반응기의 HRT (수리학적체류시간)를 2일에서 1일로 단축하여 Table 3-2에 요약된 바와 같이 식종 및 순화 그리고 phase I ~ III 까지 OLR을 6.3 kg-COD/m<sup>3</sup> · d까지 점진적으로 증가시키며 약 250일간 운전하였다. 축산폐수의 특성이 채취시마다 변화하였으므로 오염물질의 농도는 주어진 값에 약간의 오차는 있었지만 오차의 한계는 인정할 수 없었다.

각 반응조의 유입폐수는 충남 아산시 소재 C농장의 양돈폐수를 사용하였다. C농장은 1,500두의 전업규모 양돈농가로서 축사의 형태는 스크래퍼식(80%)과 슬

Table 3-2. Operational strategies for anaerobic bioreactors

Period	Operation period (days)	OLR (kgCOD/m <sup>3</sup> · d)	HRT (days)	Influent Concentrations(mg/L)				
				COD	VFAs	TOC	TKN	TP
Innoculation & Acclimation	0-55	1.1	2	2,200	1,040	920	400	310
Phase I	56-84	2.2	2	4,490	1,460	1,220	480	290
Phase II	85-137	4.1	1	4,100	1,340	1,110	760	270
Phase III	138-253	6.3	1	6,310	1,680	2,120	1,310	350

러리식(20%)을 검비하고 있으며, 축산폐수 발생량은 6 m<sup>3</sup>/d정도이다. 채취된 축산폐수는 4℃ 냉장고에 보관하였으며 실험기간 동안 성상의 변화는 관찰되지 않았다. Table 3-3에 축산폐수의 분석결과를 요약하였으며 필요시 수돗물로 희석하여 유입폐수로 사용하였다. 5기의 반응조에 천안하수처리장 잉여소화슬러지(TSS = 24.4 g/L, Volatility = 60%)를 2 L(이단의 경우 각 반응조에 1 L)씩 식종하였고, 축산폐수를 수돗물과 1:7로 희석하여 유량 3.4 L/d(HRT = 2 d)로 주입하여 초기운전을 시작하였으며, 적응기간은 약 40일 정도 소요되었다. 주어진 OLR에 대하여 COD제거율이 80% 이상의 상태가 2주일 정도 유지되면 정상상태로 인정하고 원폐수의 희석배율을 낮게 하거나 HRT를 단축하여 OLR를 점진적으로 증가시키며 운전하였다. 반응조 유·출입수의 분석을 위하여 2-4일 간격으로 시료를 채취하였으며, 가스발생량은 매일 측정하였다. pH, Alkalinity, TSS, VSS, COD<sub>Cr</sub>, BOD, N, P의 분석은 Standard Methods에 수록된 방법에 준하여 분석하였다. TOC는 TOC Analyzer, 중금속은 전처리 후 ICP, Volatile Fatty Acids는 CBP20 capillary column을 이용한 GC-FID, 발생가스 조성분석은 Porapak Q와 Molecular Sieve 5A column을 연결하여 GC-TCD를 이용하여 각각 분석하였다.

Table 3-3. Characteristics of swine wastewater used as an influent of filter bioreactors

Parameters		Conc. (mg/L)	Parameters		Conc. (mg/L)	Parameters		Conc. (mg/L)
pH		7.47	P	t-TP	608	Metals	Al	3
Alkalinity		8,405		t-Ortho P	201		As	nd
Hardness		841		s-TP	290		Ca	323
BOD	t-BOD	24,000		s-Ortho P	174		Cd	nd
	s-BOD	16,500	Acetic acid	7,372	Cr		nd	
COD	t-COD	29,648	VFAs	Propionic acid	3,519		Cu	5
	s-COD	17,876		Isobutyric acid	-		Fe	11
Solids	TSS	7,700		Butyric acid	3,228		Hg	nd
	TVS	6,783		Isovaleric acid	860		Mg	2
TOC		7,938		Valeric acid	717		Mn	1
N	t-TKN	3,000		Isocaproic acid	316		Ni	nd
	t-NH <sub>3</sub> -N	2,940		Caproic acid	395		Pb	nd
	s-TKN	2,550	Heptanoic acid	392	Se	nd		
	s-NH <sub>3</sub> -N	2,500			Zn	8		

#### 나. 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 최적화

이단 혼합형 혐기성 소화공정의 최적화에 사용된 Lab-scale 혐기성 소화 반응기는 Figure 3-2와 같이 이단 ASBF(Anaerobic Sludge Blanket Filter type)로서 원통형 유리재질로 2 set가 제작되었다. 각 이단 ASBF 반응기는 유효용량이 동일한 산형성조와 메탄형성조로 구성되었고 각 단상은 단면적 287 cm<sup>2</sup>, 높이 130 cm로서 유효용량은 20 L로 하였다. 미디어의 종류와 깊이에 대한 연구결과로서 반응기의 상부 유효부피의 1/2을 pall ring으로 충전 하였으며 일단에서 이단으로의 흐름은 자연유하방식을 이용하였다. 충전 media인 pall ring은 비표면적이 넓고 공극이 크므로 미생물의 부착생장이 용이한 특성을 가지고 있다. 유입수는 하부 분배장치에 일정간격으로 구멍을 내어 균일한 상향류가 되도록 하였고, 반응조 높이 10 cm간격으로 시료 채취구를 설치하였다. 유출수 분석을 위한 시료채취는 역사이핀 하부 시료 채취구를 이용하였다. 2 set의 이단 ASBF 반응기는 35℃ 항온조에서 연속적으로 운전되었으며, 반응기로부터 발생하는 가스는 wet gas meter, 그리고 가스조성 분석을 위한 시료의 채취는 가스포집장치를 이용하였다.

각 이단 ASBF 반응기에 사용된 폐수는 인공폐수(N/M/B medium에 sucrose

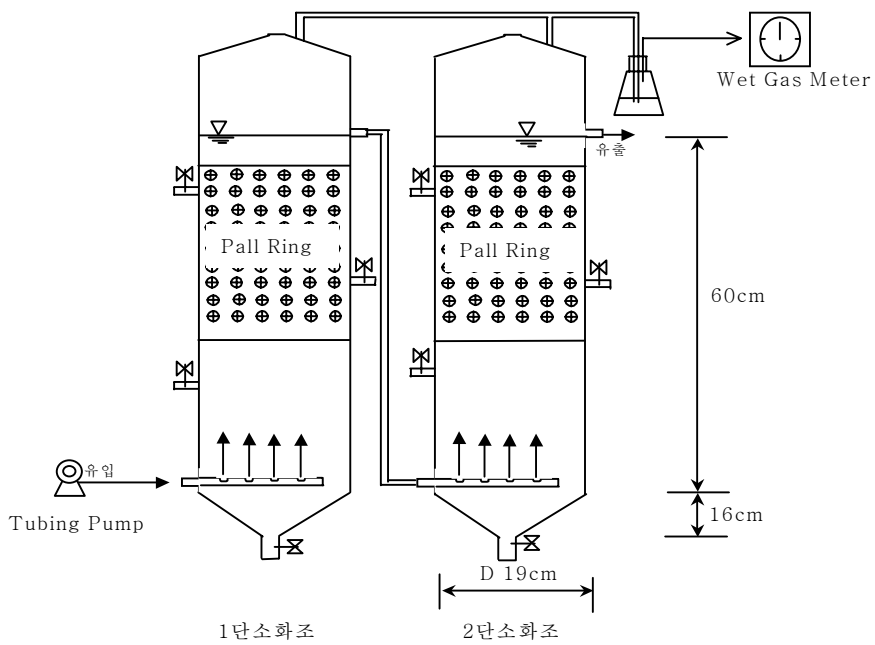


Figure 3-2. Schematics of lab-scale two-stage ASBF bioreactors

를 탄소원으로 하여 실험실에서 제조)와 아산시 축산폐수공공처리장의 1차처리(물리화학적 침전에 의한 고형물 제거의 전처리)된 축산폐수를 사용하였다. Sucrose는 미생물이 쉽게 분해할 수 있는 간단한 유기물질로 혐기성 소화반응기의 성능을 평가하는데 적절하다. N/M/B medium 용액은 Table 3-4와 같이 Young이 추천한 혐기성 미생물의 성장에 적합하게 만들어진 영양염류와 미네랄 그리고 완충제를 포함하고 있다. 아산시 축산폐수공공처리장은 처리용량 50 m<sup>3</sup>/d로 1차 처리인 응집침전에 의하여 고형물을 제거하고 생물학적 처리인 PID (phase isolation ditch)에 의하여 처리 후 아산시 하수종말처리장으로 연계처리하는 방식을 채택하고 있다. 인공폐수는 sucrose를 탄소원으로 하여 N/M/B medium 원액을 제조한 후 유입 전에 10배 희석하여 사용하였다. 축산폐수는 1차 처리 후의 폐수를 채취하여 유입수로 사용하였고, 이단 ASBF반응기에 유입될 때 까지 4℃ 냉장고에 보관 하여 실험기간 동안 성상의 변화는 관찰되지 않았다. 유입수로 사용된 축산폐수의 성상은 Table 3-5에 요약된 바와 같이 용존성 COD = 5,030 mg/L, SS = 1,690 mg/L, 그리고 TKN = 1,960 mg/L로 고농도의 유기물질, 부유물질 및 영양물질의 질소를 함유하고 있으며, 필요시 교내 지하수로 희석하여 유입폐수로 사용하였다. 각 반응기에 천안시 하수종말처리장 혐기성 소화조의 잉여슬러지를 식종하였고, 잉여슬러지의 성상은 SS는 24.4 g/L, volatility는 60%였다.

각 이단 ASBF 반응기에 천안시 하수종말처리장 혐기성 소화조의 잉여슬러지를 반응기 유효부피의 30%(6 L/set)에 식종한 후 인공폐수를 유입수로 사용하여 식종 및 배양기간(운전 1 ~ 40일)을 거친 후 정상상태로 운전하도록 하였다. 각 이단 ASBF 반응기는 식종 및 배양기간 동안 40 L/day의 유량으로 수리학적체류시간(HRT, hydraulic retention time) 1 일, 그리고 유기물부하(OLR, organic loading rate) 2.0 kgCOD/m<sup>3</sup>·d로 운전되었다. 식종 및 배양기간 이후 인공폐수를 유입수로 하는 이단 ASBF 반응기(ASBF-Control)는 주어진 OLR에 대하여 COD 제거율이 60% 이상으로 2주일 정도 유지되면 정상상태로 간주하고 Table 3-6과 같이 유입수 COD 농도를 높이거나 HRT를 증가함에 의하여 OLR을 점진적으로 증가시켜 약 350일간 운전하였고, 축산폐수를 유입수로 하는 이단 ASBF 반응기(ASBF-SW)는 식종 및 배양기간 이후 축산폐수의 희석배율을 낮게 함으로써 Table 3-7과 같이 OLR을 증가시키며 운전하였다.



Table 3-4. Composition of nutrient/mineral/buffer(N/M/B) medium

Ingredient (mg/L)	Concentration in test culture (mg/L)	Ingredient (mg/L)	Concentration in test culture (mg/L)
<b><u>Nutrient :</u></b>		<b><u>Minerals :</u></b>	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	150
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/L · d)	150	MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	200
NH <sub>4</sub> Cl	530	FeCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	20
Cysteine(mg/L · d)	100	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.50
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.25	ZnCl <sub>2</sub>	0.25
		CuCl <sub>2</sub>	0.15
		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.05
<b><u>Buffer :</u></b>		CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	2.50
NaHCO <sub>3</sub>	6,000	NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.25
		Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	0.25

Table 3-5. Characteristics of swine wastewaters used as an influent of lab-scale two-stage ASBF bioreactors collected from A-San city's public swine wastewater treatment plant

Parameters		Concentration (mg/L)	Parameters		Concentration (mg/L)
pH		8.64	T-P		35
Alkalinity(as CaCO <sub>3</sub> )		3,460	T-N		1,960
COD	t-CODcr	7,330	Metals	Fe	65
	s-CODcr	5,030		Cu	6
Solids	SS	1,690	VFAs		2,296
	VSS	1,320	(as acetate)		

Table 3-6. Influent characteristics of two-stage ASBF-C bioreactor

Period	Operation period (days)	OLR (kgCOD/ m <sup>3</sup> ·d)	HRT (day)	Influent Concentrations (mg/L)		
				CODcr	TKN	TP
Inoculation & Acclimation	0 ~ 55	2	1	2,000	50	10
Phase I	56 ~ 200	2	1	2,000	50	10
Phase II	201 ~ 221	4	1	4,000	365	20
Phase III	222 ~ 251	6	1	6,000	365	30
Phase IV	252 ~ 263	10	1	10,000	365	50
Phase V	264 ~ 342	5	2	10,000	365	50

C : Control (C-source is sucrose only)

Table 3-7. Influent characteristics of two-stage ASBF-SW bioreactor

Period	Operation period (days)	OLR (kgCOD/ m <sup>3</sup> ·d)	HRT (day)	Influent Concentrations (mg/L)				C-Source
				CODcr	TKN	TP	VFAs	
Inoculation & Acclimation	0 ~ 39	2	1	2,000	50	10	0	Sucrose
Phase I	40 ~ 117	2	1	2,000	50	10	0	Sucrose
Phase II	118 ~ 127	2.5	1	2,515	980	17	1,148	SW*
Phase III	128 ~ 209	3	1	3,000	500	10	574	SW+ Sucrose
Phase IV	210 ~ 266	4.8	1	4,800	980	54	4,726	SW
Phase V	267 ~ 342	2.5	2	5,000	1,092	54	1,480	SW

SW\* : Swine Wastewater

이단 ASBF 반응기의 성능을 평가하기 위하여 혐기성 소화에 영향을 주는 항목을 선별하고 2 ~ 3 일 간격으로 유입·유출수 시료를 채취, 분석하였으며 가스발생량과 조성분석은 매일 측정하였다. 반응기 운전의 분석항목은 pH, alkalinity, SS, VSS, CODcr(soluble과 total), VFA(volatile fatty acids), TKN(total kjeldahle nitrogen), T-P(total phosphate)로서 분석은 Standard Methods()에 수록된 방법에 준하여 분석하였다. 중금속은 전처리 후 ICP(Shimazu, ICPS5000), VFAs는 시료를 인산으로 산성화후 Supelco Wax 10 capillary column을 이용한 GC-FID(Shimazu, 14B)를 이용하여 분석하여 acetic acid 이외의 VFAs는 acetic acid와 등량으로 계산후 합산하여 나타내었다. Biogas 발생량은 wet gas meter(Shinagawa, W-NK-0.5A) 그리고 가스 조성분석은 MLSxi Multigas analyzer(Gas Data MLSxi, Gas Data Ltd. UK)를 이용하여 분석하였다.

### 3. Full-scale 이단 혼합형 ASBF system에 대한 연구

본 연구사업의 축산폐수의 발생량과 특성, 암모니아 내성 혐기성 소화 미생물의 분리, 동정, 대량 배양 연구 그리고 lab-scale 이단 혼합형 ASBF 공정에 대한 연구 결과를 종합하여 본 연구의 최종목표인 현장 실증용 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 full-scale 이단 혼합형 ASBF 공정 system에 대한 설계 자료를 확보하고, 제작, 그리고 시운전을 통하여 정상 운전하여 기업으로 하여금 실용화할 수 있는 기반을 조성하도록 하였다.

## 제 2 절 결과 및 고찰

### 1. 축산폐수의 발생량과 특성

27개 축산농가에서 발생하는 축산폐수의 발생량과 특성은 일반적으로 농가의 사육방식(축사의 형태 및 청결정도 등) 그리고 계절별로 차이가 있다. 분과 뇨를 분리하여 뇨와 세척수를 수집, 처리하는 스크레이프식 축산농가에서 발생량은 4(2-8) L/두·day로 나타나고 있으며 1,500두 규모의 축산농가는 약 6 m<sup>3</sup>/day를 발생시키고 있다. 본 연구에서 조사된 27개 축산농가의 축산폐수 처리방식은 규모와 형태에 따라 차이가 있었으며 간이대상의 축산농가는 공공처리시설로 운반 처리되고 있었으며 신고 및 허가대상 축산농가는 개별 처리시설을 갖추고 있었다. 개별 처리시설은 호기성 생물학적 처리와 저장액비화의 방식에 의존하고 있으며, 방류수 수질기준을 만족하지 못하여 축산폐수가 각 축산농가당 상당량 저장/보관되어 있는 것으로 나타났다.

본 연구에서 조사된 축산폐수의 계절별, 형태별 특성을 조사한 결과는 Table 3-8에 요약되었다. 축산폐수는 발생 후 1~2 일의 저장기간(저류조)동안 용해성 유기물질은 빠른 속도로 산패되는 현상이 나타나고 있어서 VFA의 농도가 1,290 ~ 7,290 mg/L으로 상당히 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 산패현상은 pH 7.6 ~ 8.7, alkalinity 720 ~ 85,000 mg/L as CaCO<sub>3</sub>와 같은 현상도 동반하고 있다. 본 연구에서 조사된 축산폐수의 유기물질의 농도는 기준에 보고된 자료(3)보다 높은 것으로 나타나고 있으며, COD 12,000(1,000 ~ 40,000) mg/L, BOD 5,000(1,300 ~ 36,000) mg/L, TOC 3,000(630 ~ 18,000) mg/L로 나타나고 있다. 또한 축산폐수는 고농도의 부유물질인 SS(880 ~ 76,000 mg/L)을 함유하고 있으며, 질소성분은 대부분이 암모니아 질소로서 700 ~ 2,600 mg/L, 그리고 인성분은 대부분이 유기인으로서 220~13,700 mg/L을 함유하고 있다. 축산폐수에 존재하는 금속성분은 Ca>Mg>Fe>Cu>Zn의 순이었으며, 다른 중금속은 존재하지 않는 것으로 나타났다. 축산폐수의 유기물, 질소, 인성분의 함량은 겨울철(1 ~ 2 월)에 높은 것으로 나타났으며, 그 이유는 세척수가 많이 함유되지 않은 것으로 판단된다. 또한 스크레이퍼형 축사의 유기물, 질소, 인성분의 함량이 높은 것으로 나타났으며, 그 이유는 스크레이퍼형 축사가 슬러리형 축사보다 분과 뇨의 분리가 효율적인 것으로 판단된다.

Table 3-8. General characteristics of swine wastewaters sampled from 27 pig farmers during July 2000 - May 2001

Parameters (mg/L)	Concentration in mg/L (average and ranges from 27 samples)					
	Winter(Jan.~Feb. 2001)		Spring (Apr.~May 2001)		Summer(July~Aug. 2000)	
	Scrapper <sup>1)</sup>	Slurry <sup>2)</sup>	Scrapper <sup>3)</sup>	Slurry <sup>4)</sup>	Scrapper <sup>5)</sup>	Slurry <sup>6)</sup>
pH	8.3 (6.9-9.8)	7.7 (6.6-8.6)	8.6 (7.9-9.4)	8.1 (7.3-8.4)	7.9 (7.5-8.3)	7.6 (6.9-8.2)
Alkalinity as CaCO <sub>3</sub>	10,500 (720-39,100)	26,600 (3,100-85,000)	8,800 (3,800-14,000)	12,100 (9,800-14,500)	6,200 (2,400-8,400)	9,900 (4,500-12,400)
SS	11,000 (2,600-43,400)	34,000 (10,600-76,000)	8,000 (4,800-11,200)	14,800 (11,500-17,200)	4,100 (870-7,700)	6,500 (1,200-10,500)
VSS	3,900 (1,500-14,500)	21,600 (4,600-54,600)	3,100 (2,200-4,000)	7,200 (4,600-10,300)	3,300 (730-6,800)	5,500 (880-9,600)
BOD	6,200 (1,400-21,300)	35,400 (6,500-91,500)	2,100 (2,000-2,300)	8,100 (3,500-21,600)	11,400 (2,100-24,000)	9,400 (7,200-14,400)
t-COD	10,700 (2,900-40,000)	60,000 (12,900-97,100)	7,600 (5,000-10,200)	17,300 (9,300-40,700)	19,400 (7,100-29,700)	25,600 (11,700-37,400)
s-COD	7,400 (970-29,400)	36,300 (9,300-56,800)	6,200 (2,700-9,700)	5,900 (1,000-10,000)	13,400 (950-28,700)	12,400 (4,400-18,000)
TOC	3,600 (630-14,700)	9,300 (3,500-17,400)	1,500 (1,100-1,900)	3,200 (1,500-4,400)	3,800 (250-7,900)	6,600 (2,500-9,700)
VFAs as acetate	1,290 (0-7,850)	3,420 (0-12,500)	4,530 (3,650-5,560)	4,700 (950-10,200)	7,590 (420-17,370)	5,190 (2,200-49,400)
T-N	1,200 (120-4,500)	1,900 (570-3,500)	720 (380-1,100)	950 (680-1,100)	1,800 (590-3,000)	2,980 (1,400-4,100)
NH <sub>4</sub> -N	1,000 (120-3,600)	1,800 (510-3,400)	700 (380-1,000)	920 (670-1,100)	1,800 (560-2,900)	2,600 (1,300-3,500)
Org-N	160 (1-900)	80 (20-140)	20 (3-40)	30 (6-40)	60 (30-70)	370 (100-590)
T-P			520 (430-610)	840 (610-1,060)	460 (220-720)	990 (610-1,450)
Ortho-P	-	-	210 (180-240)	220 (170-350)	270 (170-550)	220 (90-310)
Org-P			310 (200-430)	610 (260-870)	190 (50-410)	770 (300-1,360)
Metals						
Ca	-	-	60(54-61)	210(160-290)	210(140-320)	280(180-400)
Cu	3(0.7-5)	60(1-140)	2(1.5-1.8)	5(4-8)	2(1-5)	6(3-8)
Fe	9(2-21)	60(3-140)	4(2-6)	16(14-21)	8(4-11)	12(10-16)
Mg	23(5-43)	330(7-760)	11(4-18)	39(1109-120)	24(2-54)	63(13-170)
Zn	3(1-7)	39(1-80)	3(1-4)	20(11-38)	4(1-8)	6(2-8)

## 2. Lab-scale 혐기성 소화공정의 구성과 최적화 연구

### 가. 이단화와 filter media에 대한 영향

식중 혐기성 미생물에 대한 F/M비를 0.024 kgCOD/kgVSS · d로 초기운전을 시작하였으며, 5개 반응기 COD 제거율은 Fig. 3-3과 같이 지속적으로 증가하여 78.6~83.1%에 도달하였다. Filter media를 충전한 반응기(AF, 이단 ASBF)의 COD 제거율은 높고 속도도 빨랐다. 이러한 결과는 반응기내 filter media가 biomass의 유출을 방지함과 동시에 고정화될 수 있는 표면적을 제공하여 biomass를 고농도로 유지할 수 있는 환경을 제공하는 것으로 사료된다. 운전기간 동안 각 반응기 유출수의 pH는 7.2 ~ 8.5로 안정된 분포로 나타나고 있으며 alkalinity는 phase I ~ II기간동안 (OLR 4.1 kg-COD/m<sup>3</sup> · d) 1,000 ~ 4,710 mg/L 이었으나 (Fig. 3-4) 그 후 phaseIII인 OLR 6.3 kg-COD/m<sup>3</sup> · d에서 불규칙하게 급상승하여 4,180 ~ 12,650 mg/L을 나타냈다. Alkalinity의 증가는 분해산물인 CO<sub>2</sub> 분압의 증가에 의한 것으로 판단되며 이러한 bicarbonate alkalinity는 반응기의 유입지역에서 산발효에 의한 VFA축적에 따른 pH 저하를 방지하여 메탄발효에 적절한 pH 조건을 유지하는데 필수적으로 사료된다. 운전기간 각 반응기 유출수의 T-N과 T-P을 분석한 결과는 각각 Fig. 3-5, 3-6과 같다. Phase I ~ III 기간 동안 각 반응기 유출수의 T-N은 유입수와 비슷한 310~1,870 mg/L 이었으며 T-N의 약 90% 이상이 NH<sub>3</sub>-N으로 존재하고 있었다. T-P는 전 운전기간에서 각 반응기에 220~460 mg/L로 공급되었으며, 유출수 농도는 20~360 mg/L로 나타나고 있다. PhaseIII의 운전기간에서 각 반응기 유입수, 유출수의 T-N은 비슷한 수준이나 T-P의 경우 유출수의 T-P가 유입수보다 현저히 낮게 나타나고 있는 것으로 보아 혐기성 미생물에 의한 P의 섭취가 N에 비교하여 높은 것으로 판단된다. 각 반응기에 유입되는 축산폐수의 탄소원에 대한 영양염류의 비인 COD:N:P는 52.5:6.9:1로 혐기성 미생물의 증식에 필요한 영양염류의 최저 필요량인 200:5:1보다 과량으로 공급됨에 따라 phase I ~ III의 운전기간 중에 영양염류의 부족에 의한 혐기성 미생물의 성장은 저해를 받지 않는 것으로 판단된다.

각 반응기에 존재하는 biomass는 부착된 부분의 불확실성으로 측정되지 않았다. 반응기에 유입된 COD는 제거된 COD의 90%이상이 AF 반응기의 경우 저단 부인 높이 10 cm에서 그리고 ASBF-PR의 경우도 마찬가지로 첫째단의 높이 10

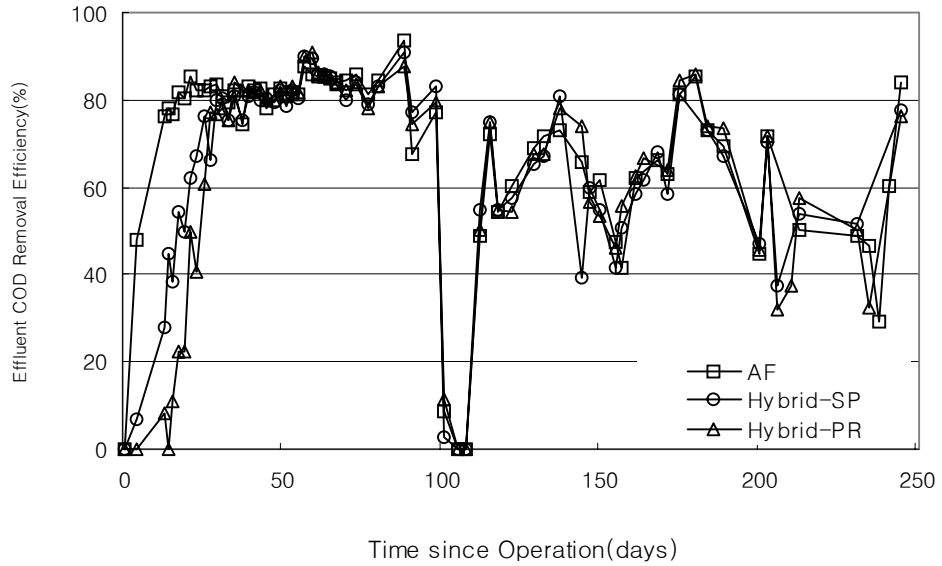


Figure 3-3. COD removal efficiency of lab-scale anaerobic bioreactor

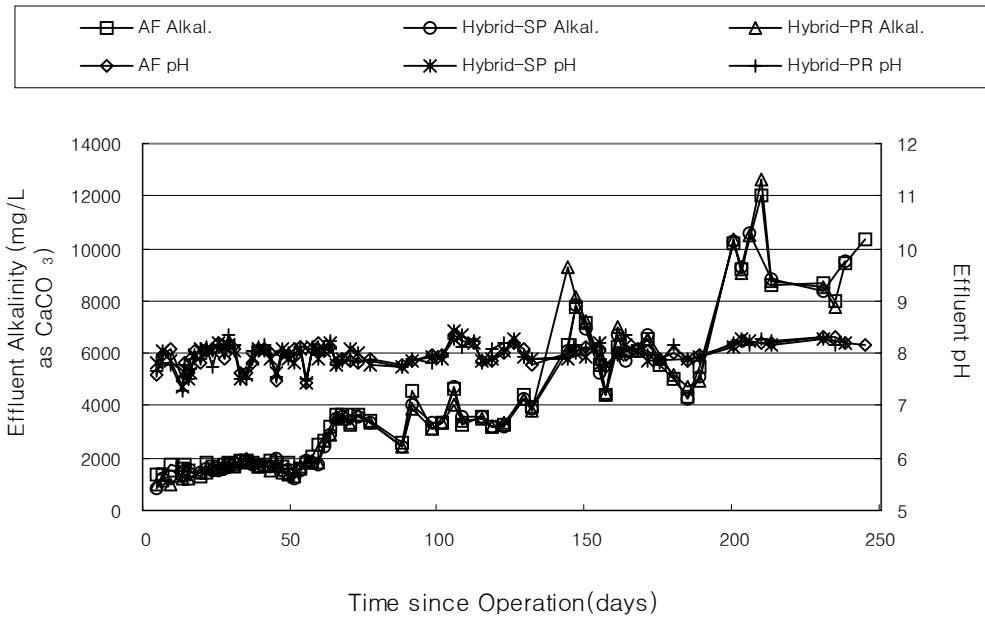


Figure 3-4. Effluent pH and alkalinity of lab-scale anaerobic bioreactors

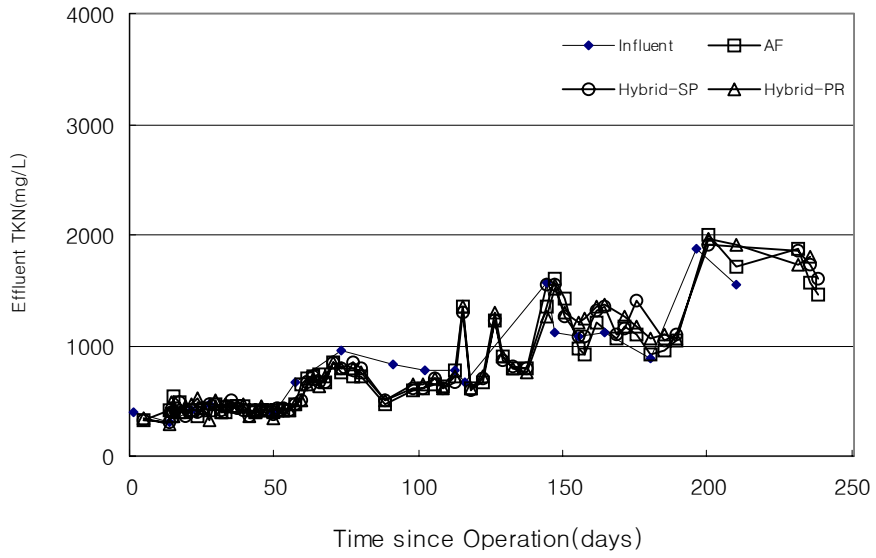


Figure 3-5. Effluent T-N of lab-scale anaerobic bioreactors

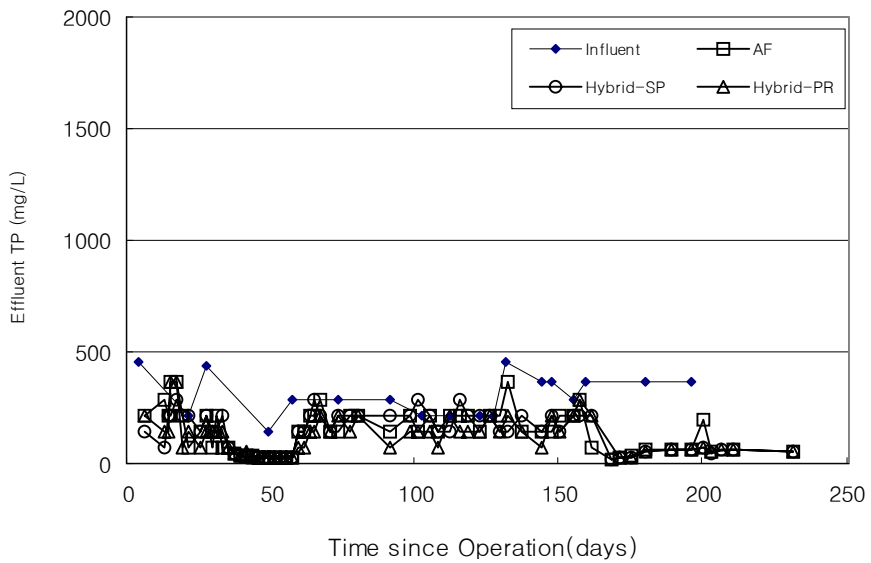


Figure 3-6. Effluent T-P of lab-scale anaerobic bioreactors



cm인 저단부에서 제거되었으며 ASBF-PR에서 첫째 단과 둘째 단 유출수의 COD농도는 차이가 없었다. VSS로 표현되는 biomass의 대부분은 AF의 경우 반응기 저단부에 13,000~18,500 mg/L 농도로 침적되어 있었으며 30 cm 이상의 높이에서는 1,000 mg/L 이하의 농도로 거의 비슷한 분포를 나타내고 있다. ASBF-PR의 경우 첫째 및 둘째 단 저단부에 biomass는 22,000~28,500 mg/L 농도로 축적되어 있는 것으로 나타나고 있으며 둘째 단 저단부의 biomass에 의한 추가적인 COD는 제거되지 않는 것으로 나타나고 있다. 이러한 현상은 상향류 AF 및 UASB반응기의 연구에서 COD의 대부분은 반응기의 저단부에서 제거되고 반응기 상부에서의 COD 제거율은 미미하나, 반응기 전체에서의 COD 제거율은 반응기의 높이가 높아지면 증가되는 보고와 비슷한 경향을 나타내고 있다. 특히, 이단 ASBF-PR에 있어서 둘째 단 저단부에 고농도 biomass를 유지한다는 것은 충격부하 혹은 혐기성 미생물에 독성물질의 유입의 경우 적응능력을 향상시킬 수 있는 것으로 사료되어 일단의 AF 반응기에 비교해 처리효율이 우수할 것으로 판단된다.

#### 나. Lab-scale 이단 혼합형 ASBF 생물반응기 공정의 최적화

##### 1) 인공폐수에 의한 고유기물 부하에서 이단 혼합형 ASBF 생물반응기의 성능

###### 가) 혐기성 미생물의 환경조건

혐기성 소화 공정의 성공적인 운전을 위해서는 미생물의 성장에 알맞은 생육조건(pH, alkalinity, temperature)을 제공해 주는 것이 중요하며 일반적으로 메탄생성을 위한 적정 pH는 약 6.8 ~ 7.4 이다. 혐기성 소화에서 CO<sub>2</sub>에 의한 산도의 완충 작용을 위해서 bicarbonate alkalinity의 역할이 중요하며, 적어도 2,000 mg/L이상이 요구된다. 본 실험에서는 1단(산 생성조)과 2단(메탄 생성조)을 분리하여 운전하였으며, 산 생성조의 색깔은 갈색을 띄고, 메탄 생성조의 색깔은 검은 색을 나타내었다. 인공폐수 유입수의 alkalinity를 인위적으로 2,000 mg /L이상이 되게 조절하여 투입하였으며, 각 반응조 유출수 내의 pH와 alkalinity에 대한 결과는 Figure 3-7과 같다. 식중 및 배양기간 초기에는 산생성에 의한 alkalinity가 낮았으나 혐기성 미생물의 적응에 의한 유기물 분해가 일어나면서 alkalinity는 서서히 증가하여 약 80일의 운전에서 유출수의 alkalinity는 2,000

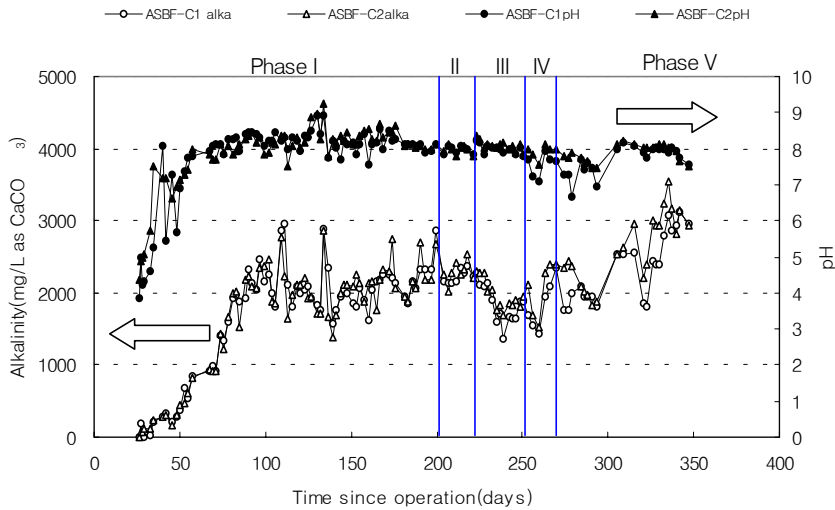


Figure 3-7. Effluent pH and alkalinity since the start-up operation.

mg/L로 회복되면서 정상운전이 가능하였다. 미생물의 혐기성 소화조 적응기간 50일 이후부터는 pH의 범위가 1단인 산 생성조에서는 7.0 ~ 8.6, 2단인 메탄 생성조에서는 7.4 ~ 8.7로 고른 분포를 나타내었고, 항상 메탄생성조의 pH가 산 생성조보다 비교적 높게 나타났으며, 이는 산 생성조에서 중간생성물인 VFAs의 영향으로 pH가 낮았던 것으로 사료된다.

#### 나) 유기물질 제거 효율

유출수내 COD 농도 및 COD 제거율은 각각 Figure 3-8, Figure 3-9에 나타냈다. 천안시 하수종말처리장의 혐기성 소화조의 잉여슬러지를 식종한 후 35일 만에 최종 유출수의 COD 제거효율이 80%이상으로 나타났고, 57일째 90%이상을 나타내어 비교적 식종 적응시간이 짧게 소요되었다. 이는 혐기성 미생물이 쉽게 분해 할 수 있는 기질인 sucrose를 사용하였기 때문인 것으로 사료된다. 유기물 부하에 따른 운전형태별 COD 제거율은 phase I 기간에서 94.4(90 ~ 99)%, phase II 기간에서 91.4(90 ~ 94)%, phase III 87.5(83 ~ 91)%, phase IV 49.7%(39 ~ 68)%, phase V 93.9(92 ~ 97)%로 phase III 기간까지는 85% 이상의 높은 제거효율을 나타내었으나, OLR 10 kgCOD/m<sup>3</sup>·d인 phase IV 기간에서는 유출수 COD 농도가 6,000 mg/L까지 증가하였고 이때 COD 제거율은 39%까지

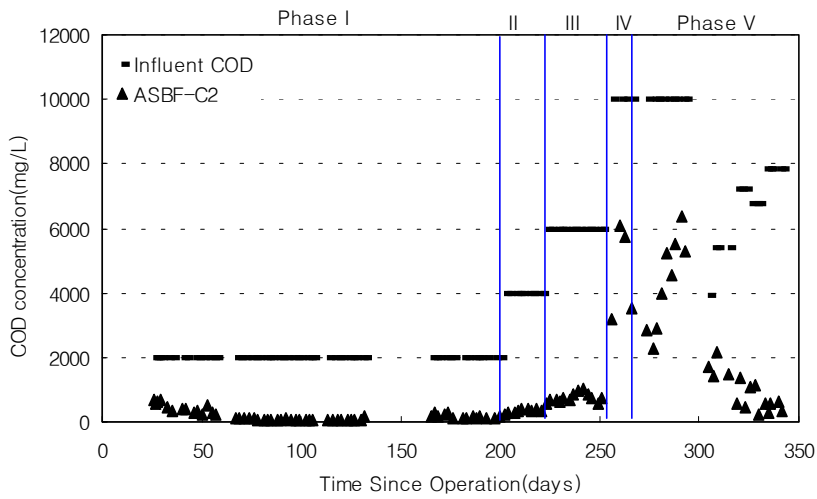


Figure 3-8. Effluent COD concentration since the start-up operation

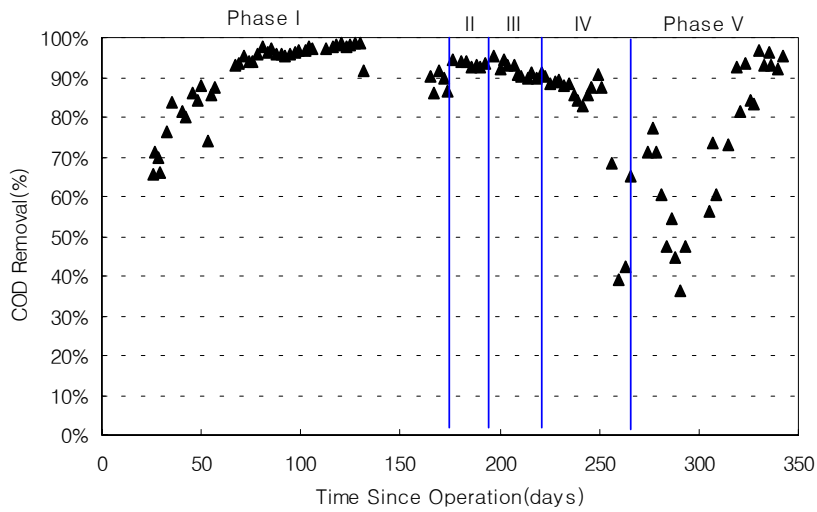


Figure 3-9. Effluent COD removal efficiency since the start-up operation

급격히 하락하는 것으로 보아 고농도의 유기물부하로 인한 과부하가 발생된 것으로 생각된다. Phase IV 기간에 2단(메탄 생성조)의 색깔이 1단(산 생성조)의 갈색과 거의 흡사하게 변하는 것도 관찰할 수 있었으며, 이 기간 중반부터는 1단과 2단의 막힘 현상이 나타났고, 2단에서의 단락류 현상으로 공정의 운전이 매우 어려웠다. 그러므로 과부하로 인하여 메탄 생성조도 산 생성단계인 상태에서 유출됨과 단락류 현상으로 메탄 생성균의 활성이 저하되어 높은 농도의 VFAs가 유출되어(Fig. 3-10참조) 유출수의 COD가 높아진 것으로 사료된다. Phase IV 기간 운전이 지속되면서 이단 ASBF 반응기의 효율이 저하되었으므로 효율을 높이기 위하여 phase V 기간에서는 COD 10,000 mg/L를 유지하면서 HRT를 1일에서 2일로 조절하여 OLR 5 kg/m<sup>3</sup>·d로 운전한 결과 서서히 과부하 현상에서 벗어나 52일 만에 COD 제거효율이 90% 이상으로 회복되었고 상분리도 시작되었다. 이는 단상 반응기보다 상분리에 의한 이단 반응기 시스템이 빠르고 안정된 회복율을 보여주는 결과이다.

각 단의 유출수내 VFAs의 농도를 Figure 3-10에 나타내었고, 실험 시작 후 186일째부터 측정되었다. 1단의 산 생성조에서 VFAs 농도가 phase III 기간까지 78 ~ 3,234 mg/L로 점점 증가하였으나 2단 유출수의 VFAs농도는 16 ~ 1,104 mg/L로 안정적인 수질을 보였는데 이는 산생성조와 메탄생성조로 확실한 상분리가 이루어졌음을 알 수 있었다. 그러나 과부하 기간인 phase IV 기간에서는 1단, 2단의 VFAs의 농도가 각각 최고 4,047, 3,355 mg/L까지 증가하여 상분리가 흐트러지면서 메탄 생성균 활성 저하로 인하여 biogas중 CH<sub>4</sub> 생성이 억제되었다. OLR을 반으로 감소시킨 phase V 기간의 5 kgCOD/m<sup>3</sup>·d에서 2단의 VFAs 농도는 서서히 감소하기 시작하여 50일 후에는 500 mg/L로 유지되면서 상분리가 이루어지면서 유출수 VFAs농도 감소와 biogas인 CH<sub>4</sub> 발생이 증가되므로 과부하에서 완전히 회복된 것으로 나타났다.

OLR에 따른 COD 제거율은 Figure 3-11에, COD 제거율 및 가스 생성율에 대한 요약은 Table 3-9에 나타내었으며, 각각의 수치는 정상상태에서의 일정한 값 이상의 데이터를 평균한 값이다. Phase III 기간까지는 COD 제거효율이 85% 이상의 높은 제거효율을 나타내었으나 과부하가 일어난 phase IV 기간에는 49.7%로 낮은 제거효율을 보였으며, 과부하에서 회복된 phase V 기간에는 정상상태에서 COD 제거효율이 93.9%로 높은 제거효율을 보여 완벽한 회복효과를 보여 주었다.

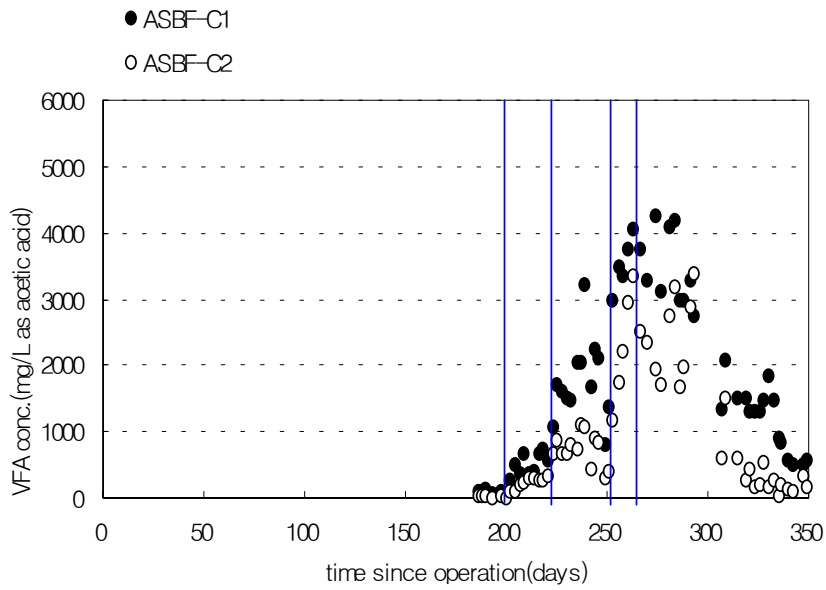


Figure 3-10. Effluent VFAs concentration since the start-up operation

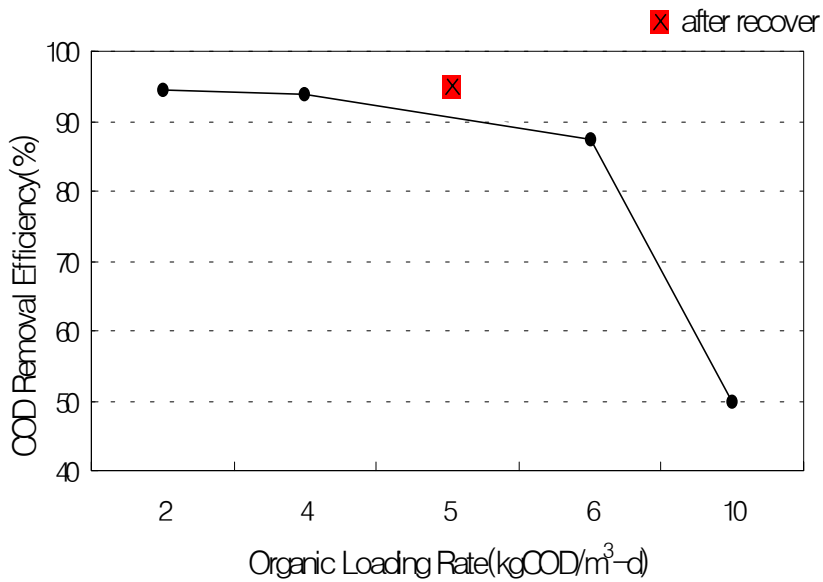


Figure 3-11. Steady-state COD removal efficiency at different OLRs

Table 3-9. Performance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state conditions

OLRs (kgCOD/ m <sup>3</sup> · d)	2 (Phase I)		4 (Phase II)		6 (Phase III)		10 (Phase IV)		5 (Phase V)	
	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction
ASBF-C	94.4	0.483 (-)	91.4	0.442 (0.232)	87.5	0.431 (0.203)	49.7	0.559 (0.185)	90.8	0.492 (0.195)

\* ( ) 은 CH<sub>4</sub> yield(m<sup>3</sup>/kg · COD removed)

\* biogas production(m<sup>3</sup>/kg · COD removed)

#### 다) 혐기성 미생물에 대한 영양염류

혐기성 소화에서 미생물은 유기물질을 메탄과 CO<sub>2</sub>로 전환되는 동시에 일부분은 생물학적 세포로 전환되면서 성장하게 된다. 이러한 미생물의 원활한 성장을 유도하기 위해서 유기물질 이외에도 영양염류로 질소와 인의 제공이 필요하다. 질소는 세포 단백질, 효소, RNA, 그리고 DNA의 합성에 요구되며, 인의 경우 ATP, 지질 등의 합성에 요구된다. 본 실험은 혐기성 미생물의 영양물질로 적절한 요구량인 COD:N:P의 비율을 200:5:1로 맞추기 위해 인공적으로 제조하여 투입하였으며, phase II 기간부터 유리 암모니아성 질소에 대한 독성영향도 함께 관찰하기 위해서 유리 암모니아 50 mg /L에 해당하는 양을 투입하였다.

ASBF-Control 유출수의 TKN, T-P는 각각 Figure 3-12 과Figure 3-13과 같다. 실험 전 기간에 걸쳐 TKN의 농도는 50 ~ 365 mg/L, T-P의 농도는 10 ~ 50 mg/L로서 유입수의 수질과 비슷한 양상을 보이고 있었다. 그러므로 혐기성 소화에서 세포성장에 N, P가 이용되었지만 세포합성에 이용된 N, P는 유입수 농도에 비교하여 정량적 분석이 어려울 정도로 작았던 것으로 나타났다. 혐기성 소화에서 미생물의 저해 작용을 하는 암모니아는 수용액에서 TAN(total ammonium nitrogen)으로 분석되고 pH에 따라 다음과 같이 해리하여 NH<sub>4</sub>-N의 UAN(unionized ammonium nitrogen)과 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N인 IAN(ionized ammonium nitrogen)으로 존재한다.

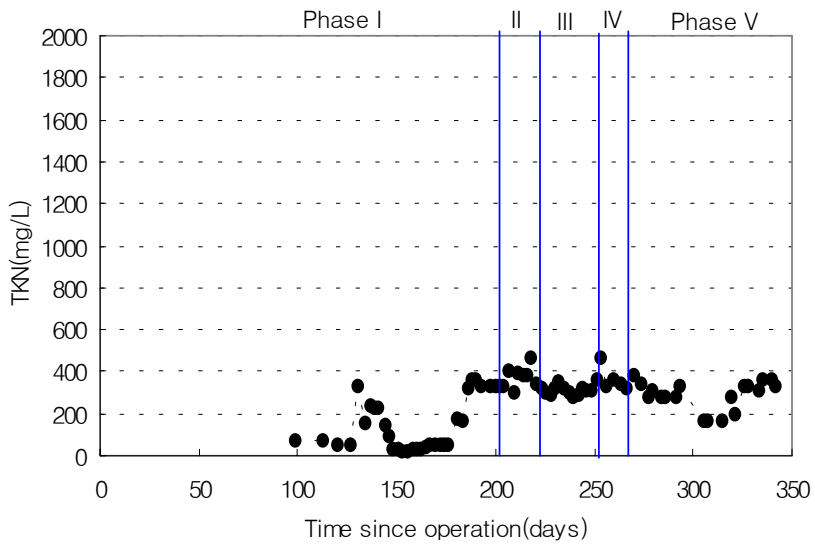


Figure 3-12. Effluent TKN concentration since the start-up operation

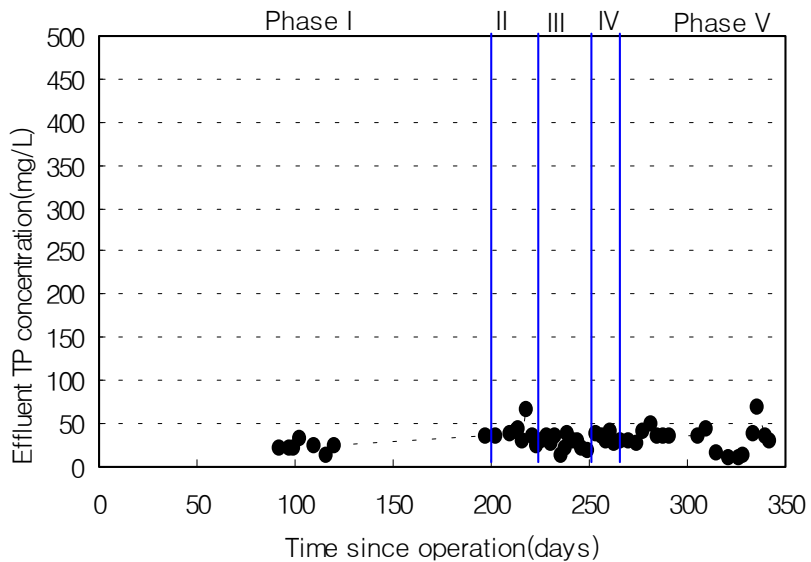


Figure 3-13. Effluent T-P concentration since the start-up operation

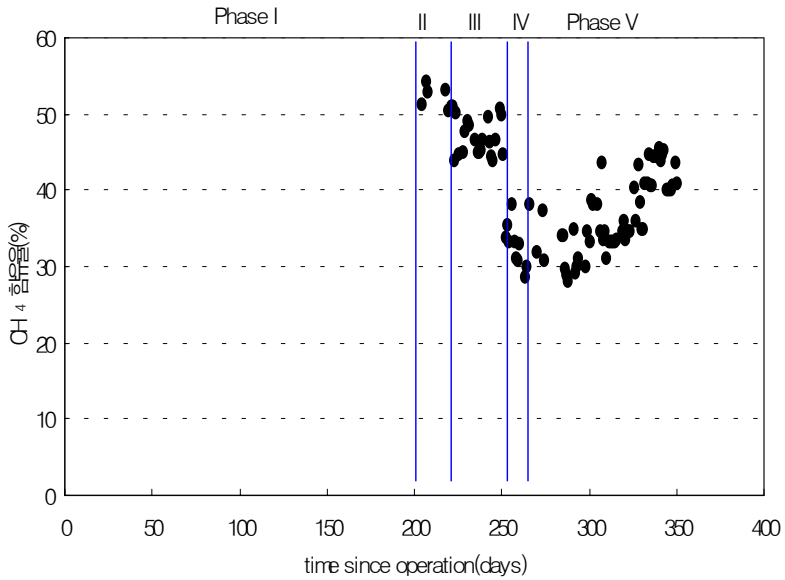
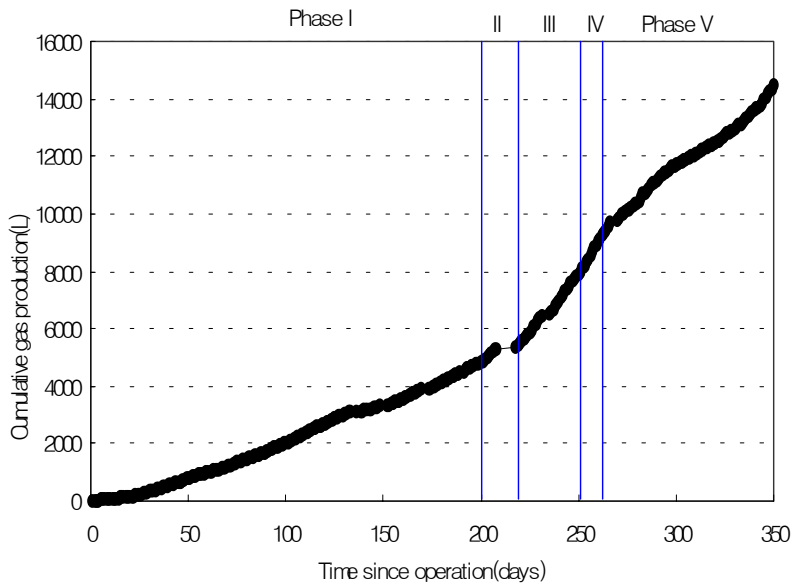
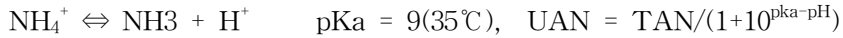


Figure 3-14. Cumulative gas production & CH<sub>4</sub> composition since the start-up operation





이 중에서도 UAN은 혐기성 미생물에 독성/저해작용을 하는 주된 물질로 알려져 왔으며 같은 농도의 TAN에서 온도와 pH 조건에 따라 농도가 달라지나 40 ~ 120 mg/L에서 산 생성균 보다도 메탄 생성균의 대사 경로에 치명적인 영향을 미치는 것으로 보고 되고 있으나 3개월 적응기간을 거친 메탄균은 1,100 mg/L에서도 독성/저해작용을 하지 않는 것으로 보고된 경우도 있다. ASBF-Control에서 phase II 기간부터 UAN = 50 mg/L(TAN = 365 mg/L)을 유입하였지만 Figure 3-9와 Figure 3-14와 같이 COD 제거율과 biogas 발생량에 영향을 주지 않은 것으로 보아 암모니아에 의한 저해/독성작용이 없는 것으로 나타났다. 이는 UAN = 50 mg/L는 저해/독성의 초기농도이기 때문에 혐기성 소화에 영향을 주지 않았으나 농도가 높아진다면 독성이 나타날 수 있다. 또한 암모니아에 적응이 된 경우 UAN = 1,100 mg/L에서도 독성을 나타내지 않았으므로 고농도의 암모니아에 대한 혐기성 소화 미생물에 대한 영향은 좀 더 연구가 되어져야 한다고 판단된다.

#### 라) Biogas production

Biogas 발생량은 표준상태(0°C, 1 atm)을 기준으로 정량 하였으며, 그 결과는 Figure 3-14와 같다. OLR이 증가함에 따라 ASBF-Control의 biogas 생성량은 증가 하였으나, biogas yield는 phase I ~ phase III 기간까지 각각 0.483, 0.442, 0.431 m<sup>3</sup>/kg COD-removed로 안정적이었으나 과부하가 발생한 phase IV 기간에서는 0.559 m<sup>3</sup>/kgCOD-removed로 오히려 높게 나타났다. 그러나 phase II ~ IV 기간동안의 평균 CH<sub>4</sub>함유량을 보면 각각 52.4%, 47.2%, 33%이고, CH<sub>4</sub> yield는 각각 0.232, 0.203, 0.185 m<sup>3</sup>/kgCOD-removed로 phase IV 기간에서는 CH<sub>4</sub> yield가 낮게 나타나는 것으로 보아 과부하 기간에서 CH<sub>4</sub> 발생이 억제되고 있음을 알 수 있었고, 발생하는 biogas내 CO<sub>2</sub>의 분압이 증가한 것으로 보아 산 생성균이 자라고 있는 것으로 생각된다. 반응기의 recovery후 biogas yield는 0.492 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, CH<sub>4</sub> yield는 0.195 m<sup>3</sup>/kg COD-removed로 메탄 발생이 점차적으로 증가됨을 알 수 있었다.

#### 마) 생물 반응기내 Biomass의 보유능력

Biomass 보유 능력은 반응기의 성능향상에 중요한 영향을 미치는 것은 이미 잘

알려진 사실이다. 전 운전기간 동안 유출수의 biomass(VSS) 농도분포는 Figure 3-15와 같다. Phase I 기간에서는 65 ~ 290 mg/L, phase II 기간에는 260 ~ 385 mg/L, phase III 기간에서는 250 ~ 465 mg/L, phase IV 기간에는 435 ~ 540 mg/L로 OLR이 증가될수록 유출수의 VSS의 농도가 증가하는 경향이었으나 전체적으로 과부하의 영향 하에서도 안정된 수질을 보이는 것으로 보아 pall ring의 biomass의 보유능력은 높은 것으로 나타났다. 과부하 현상이 일어난 phase IV 기간에서는 유출수의 VSS농도가 전반적으로 500 mg/L 이상을 유지하였는데 이는 고유기물 부하에서 COD 제거율의 급격한 하락과 반응기내의 편류, 단락류 현상으로 반응기내의 불안정한 유속흐름에 의한 biomass의 유실이 증가한 것으로 사료된다. Phase V 기간에서는 HRT 2일로 증가시켜 운전한 결과 50일 후부터 유출수의 VSS의 농도는 210 ~ 350 mg/L으로 안정적인 수질을 나타내었다. 이는 HRT증가에 따른 상향유속이 0.1 cm/min에서 0.05 cm/min로 감소함에 따라 biomass의 유실이 phase IV 기간 보다는 감소하였던 것으로 판단된다.

Phase I, II 기간의 정상상태 운전 조건에서 반응기 높이별 biomass농도를 측정하였으며 그 결과는 Figure 3-16에 나타났다. 대부분의 biomass는 다량의 sludge와 함께 반응기의 저단부인 하부 10 cm정도에 침적되어 유기물부하 4 kgCOD/m<sup>3</sup>·d의 경우 1단은 29,500 mg/L(as VSS) 그리고 2단은 23,000 mg/L(as VSS)을 보이고 있었으며, 20 cm이상의 높이에서는 거의 비슷한 분포인 620 ~ 867 mg/L(as VSS)를 나타냈다. 이러한 결과로 더욱 많은 양의 유기물이 부하될 때 그리고 충격 부하의 경우, 상대적으로 낮은 유기물질을 공급받는 둘째 단의 biomass에 의해 고농도 유기물질이 효율적으로 처리될 수 있고 충격부하에 대한 적응 능력 및 혐기성 미생물에 독성을 미치는 고농도의 암모니아의 영향에 대한 대처능력이 일단의 반응기에 비해 우수할 것으로 사료된다. 그러므로 고농도의 유기물질 및 독성물질을 함유한 폐수에 적용할 경우 two-stage 혼합형 생물반응기의 적용이 적절할 것으로 생각된다.

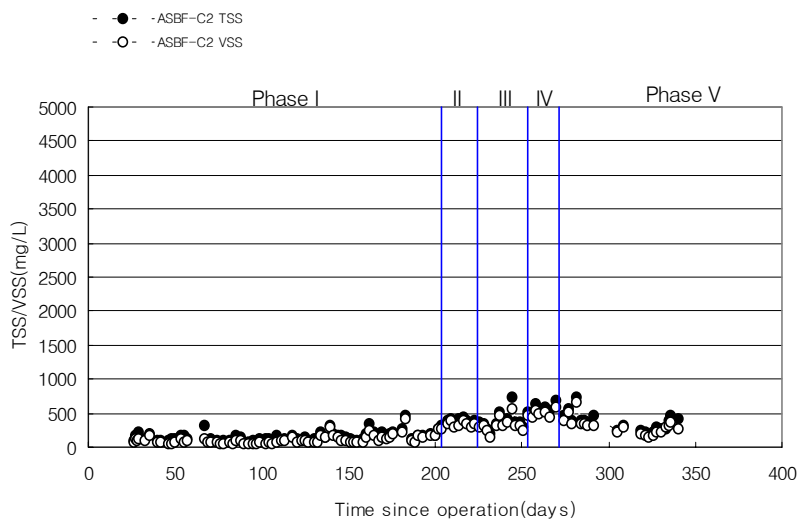


Figure 3-15. Effluent TSS & VSS concentration since the start-up operation

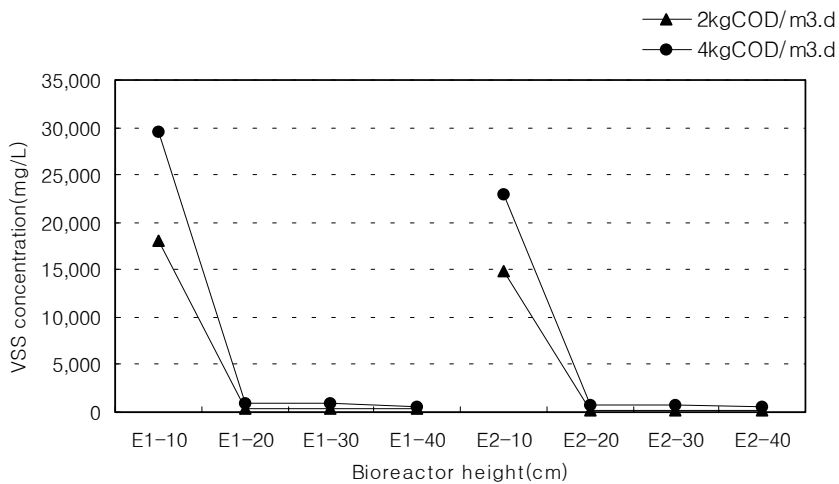


Figure 3-16 Steady-state COD profile throughout bioreactor height at different OLRs

## 2) Lab-scale 이단 혼합형 ASBF 생물반응기의 축산폐수에 응용

실제 폐수를 이단 ASBF 반응기에 적용시켜 그 성능을 비교 검토하기 위해 고농도의 용존성 유기물질뿐만 아니라 부유물질 및 혐기성 미생물에 독성물질로 알려진 암모니아를 함유하고 있는 축산폐수를 기질로 사용하여 운전, 성능을 분석하였다. 앞에서 sucrose를 기질로 사용한 ASBF-Control 반응기와 운전환경을 동일하게 하고 교내 지하수로 희석배율을 조절하여 축산폐수의 암모니아 농도를 기준으로 미생물을 적응시키면서 운전하였다. 이는 축산폐수의 특성상 혐기성 미생물에 독성 저해 영향을 미치는 암모니아의 다량 함유로 인해 미생물의 적응기간이 필요한 까닭이다. 사용된 축산폐수는 아산시 축산폐수공공처리장에서 이미 1차 물리 화학 침전에 의한 고형물 및 유기물이 다소 제거된 후이므로 특히 고형물의 농도는 그다지 높지 않았다.

### 가) 혐기성 미생물의 환경조건

ASBF-SW 반응기 유출수의 pH와 alkalinity에 대한 결과는 Figure 3-17과 같다. Phase I 기간은 ASBF-Control와 같이 sucrose를 기질로 하여 약 117일간 운전하였고 이때의 pH와 alkalinity는 각각 7.2 ~ 8.6, 2,010 ~ 3,015 mg/L as CaCO<sub>3</sub>로 미생물의 성장에 알맞은 생육조건 (pH, alkalinity, temperature)인 pH 6.8 ~ 7.4, bicarbonate alkalinity 2,000 mg/L as CaCO<sub>3</sub>이상의 범위에서 운전되었다. ASBF-SW 반응기 역시 35℃ 항온조에서 연속 운전되었다. Phase II ~ Phase V 기간에서는 축산폐수를 기질로 사용하였으나, phase II기간에서 갑작스

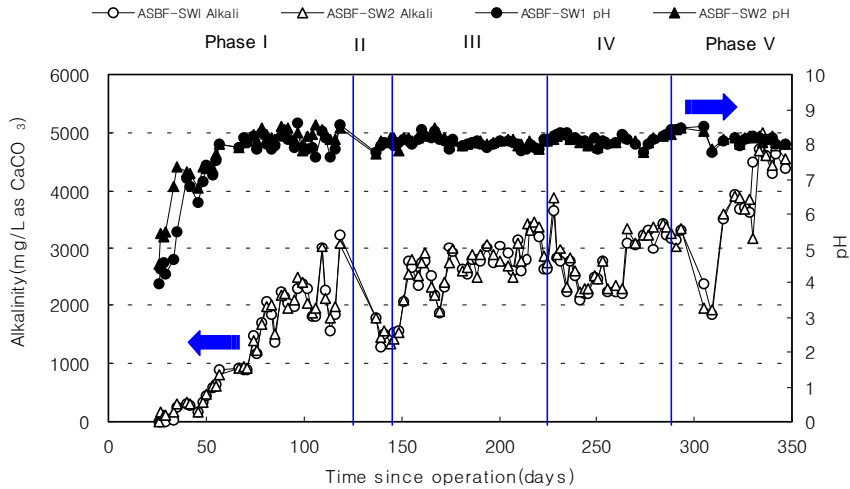


Figure 3-17. Effluent pH and Alkalinity since the start-up operation  
 런 기질 변화 및 암모니아의 유입으로 biogas 발생이 전혀 이루어지지 않아 pH  
 및 alkalinity의 정량이 어려웠고, phase II ~ phase V 기간 동안은 유출수의  
 pH 7.7 ~ 8.6, alkalinity 1,275 ~ 5,000 mg/L as CaCO<sub>3</sub>로 비교적 안정된 분포  
 를 나타내었다. OLR증가에 따른 pH, alkalinity의 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았  
 지만 혐기성 미생물의 생육에 적합한 pH, alkalinity 환경조건이 유지되었다.

#### 나) 축산폐수의 유기물질 제거 효율

축산폐수를 유입수로 하는 ASBF-SW 반응기의 유출수내 COD 농도 및 COD 제거율은 각각 Figure 3-18, Figure 3-19에 나타냈다. 반응기의 식종 및 적  
 응기간은 ASBF-Control와 같은 기질을 사용하였으므로 약 40일 정도로 짧게 소  
 요되었다. 기간별 정상상태 후 평균 COD 제거율은 phase I 기간에서 96.6%,  
 phase II 기간 0%, phase III 기간 68.1%, phase IV 기간 73.8%, phase V 기간  
 73.3%로 OLR에 따른 COD 제거율은 비슷하게 나타났으나 phase I 기간은 쉽게  
 분해 되는 sucrose를 유입하여 제거율이 높게 나타났고, phase II 기간에는 OLR  
 2.5 kg COD/m<sup>3</sup>·d, TKN농도 980 mg/L로 갑작스런 기질 변화와 높은 암모니아  
 농도의 유입으로 미생물에 독성/저해 작용으로 인하여 COD의 제거가 이루어지  
 지 않은 것으로 나타났다. Phase III기간에는 미생물의 적응기간을 위하여 축산폐  
 수의 희석비율을 낮추어 COD를 1,260 mg/L 수준으로 한 뒤 sucrose의 주입으로

COD 3,000 mg/L, TKN 500 mg/L, HRT 1일로 운전한 결과 서서히 COD 제거율이 증가하기 시작하여 phase III 기간의 정상상태에서 평균 COD 제거율은 68.1%, phase IV 기간(OLR 3.3 kg/m<sup>3</sup>·d)에서는 73.8%로 증가하였고 HRT를 2일로 운전한 phase V(COD 5,000 mg/L)에서는 73.3%로 나타났다. 이때의 각 기간별 TKN 농도는 phase II 기간 980 mg/L, phase III 기간 500 mg/L, phase IV 기간 980 mg/L, phase V 기간 980 ~ 1,092 mg/L이었고, UAN으로 환산하면 pH = 8.64이므로 phase II ~ V 기간 까지 각각 297 mg/L, 152 mg/L, 297 mg/L, 297 ~ 332 mg/L로 혐기성 미생물이 암모니아에 어느 정도 적응이 된 후 부터는 UAN 332 mg/L까지 유기물질 제거효율을 일정하게 유지하며 반응기의 안정적인 운전이 가능한 것으로 나타났다.

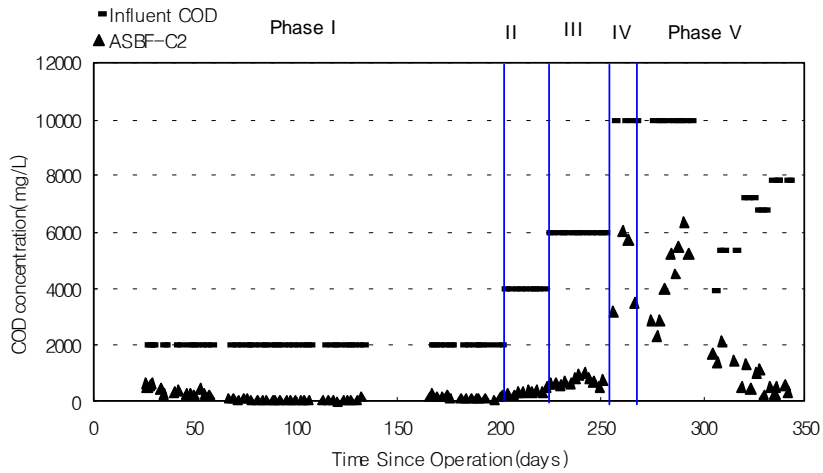


Figure 3-18. Effluent COD concentration since the start-up operation

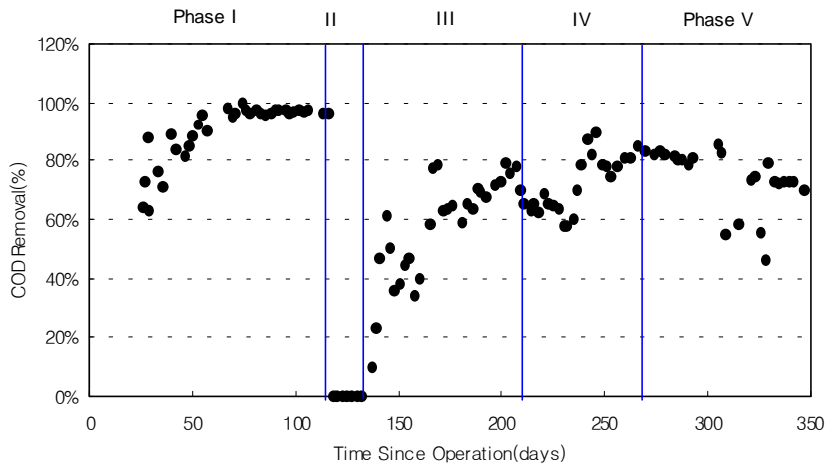


Figure 3-19. Effluent COD removal efficiency since the start-up operation

유출수내 VFAs농도에 대한 결과는 Figure 3-20과 같다. 이단 유출수내의 VFAs농도는 0 ~ 122 mg/L(as acetic acid)이나 대부분의 유출수내 농도가 100 mg/L이하로 유지되어 안정적인 수질을 나타내었다. 1단의 VFAs 농도도 102 ~ 768 mg/L(as acetic acid)로서 대부분 100 mg/L이상으로 나타났으나, 2단의 농도와 비슷하여 1단에서도 메탄 생성균이 성장하고 있는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 축산폐수는 집수조에 방치되어 있는 동안에 일부 산발효가 이루어져 SCODcr성분의 약 50%가량이 VFAs의 형태로 존재하여 상분리의 효과를 거두지 못했다. 그러므로 발생 폐수의 단기간 내에 운반 처리가 이루어지지 않는 한 축산폐수를 유입폐수로 사용할 경우 알맞은 상분리 효과를 얻기는 어려운 실정이다. 축산폐수를 사용해서 효율적인 상분리 효과를 얻기 위해서는 첫채단의 반응기 용적을 감소시키거나 체류시간을 단축시키고, pH control이 가능하도록 하여 산형성 미생물에 적절한 환경을 제공할 수 있도록 유도하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

OLR에 따른 COD 제거효율과 COD 제거율 및 biogas 생성율에 대한 요약은 각각 Figure 3-21과 Table 3-10에 나타내었으며, 각각의 수치는 정상상태에서 일정한 값 이상의 데이터를 평균한 값이다. CH<sub>4</sub> yield는 phase III 기간에서는 0.251m<sup>3</sup>/kg COD-removed, phase IV 기간 0.153m<sup>3</sup>/kg COD-removed, phase V 기간 0.213 m<sup>3</sup>/kg COD-removed로 TKN의 농도가 증가함에 따라서 감소하였는데, 이는 암모니아가 산생성균보다는 메탄생성균의 대사 경로에 영향을 미친다는 기존의 연구결과와 일치한다. 그러므로 혐기성 생물 반응기에 축산폐수를 적용할 경우 효율적인 운전과 양질의 메탄을 얻기 위해서는 축산폐수 내 암모니아의 사전 제거는 불가피한 것으로 나타났다.

Table 3-10. Performance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state conditions

OLRs (kgCOD/ m <sup>3</sup> · d)	2 (Phase I)		4 (Phase II)		6 (Phase III)		10 (Phase IV)		5 (Phase V)	
	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction	COD Remo- Val(%)	Gas Produ- ction
ASBF-SW	96.6	0.411 (-)	0	0 (0)	68.1	0.366 (0.251)	73.8	0.173 (0.158)	73.3	0.257 (0.213)

\* ( )은 CH<sub>4</sub> yield(m<sup>3</sup>/kg · COD removed)

\* biogas production(m<sup>3</sup>/kg · COD removed)



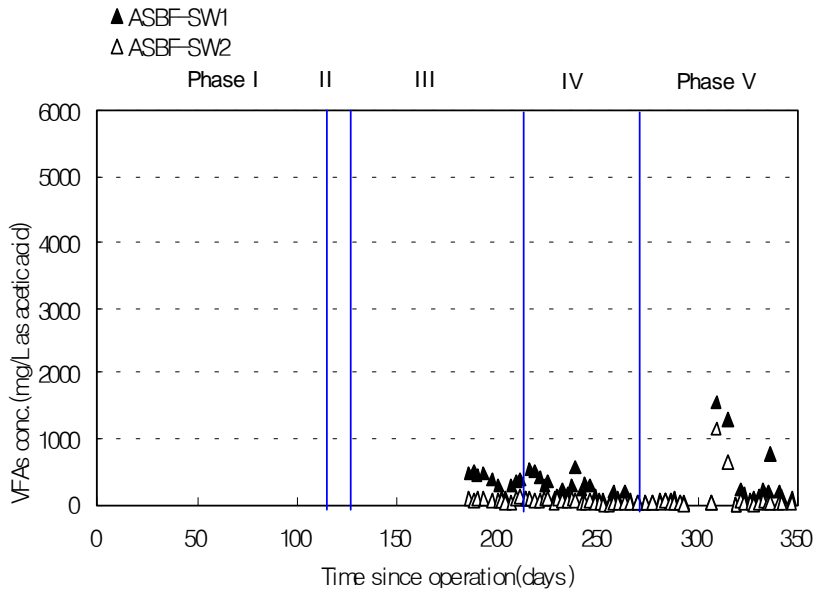


Figure 3-20. Effluent VFAs concentration since the start-up operation

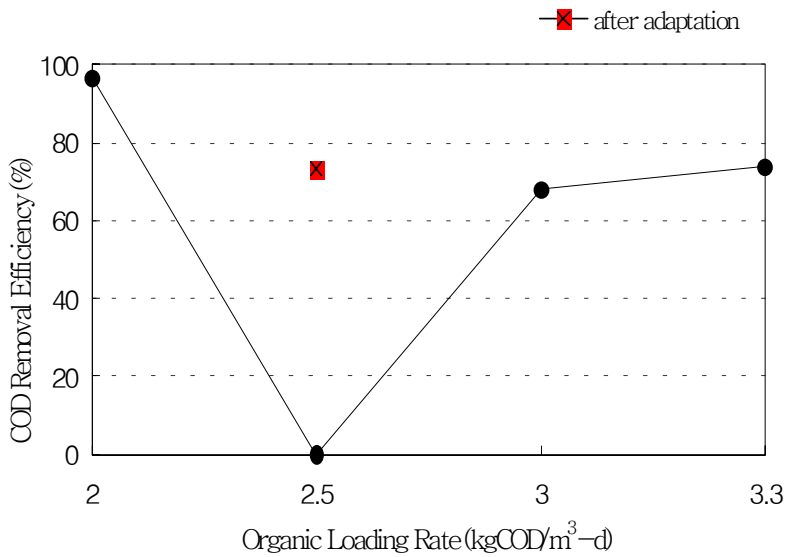


Figure 3-21. Steady-state COD removal efficiency at different OLRs

다) 혐기성 미생물에 대한 영양염류

ASBF-SW 유출수내 TKN, T-P는 각각 Figure 3-22, Figure 3-23과 같다. Phase I 기간의 유입수의 총질소 농도는 50 mg/L, phase II 기간에는 980 mg/L, phase III 기간 500 mg/L, phase IV 기간 980 mg/L, phase V기간 980 ~ 1,092 mg/L였고, 유출수내의 총질소 농도는 전기간에 걸쳐 500 ~ 1,147 mg/L로 유입수의 총질소 농도와 거의 비슷하게 유출되는 것으로 보아 미생물에의 세포성장에 N이 이용되었지만 유입수 농도에 비교하여 정량적분석이 어려울 정도로 작았던 것으로 생각된다. 그러나 TKN의 80 ~ 90%이상 암모니아성 질소로서 혐기성 미생물에 대한 저해 현상으로 각 기간별 초반에는 biogas 발생량이 매우 저조하게 나타났으나 미생물의 적응기간 후에는 일정한 발생량을 나타내었다. 이러한 결과로 혐기성 미생물 및 메탄생성 박테리아가 암모니아에 적응이 되지 않았을 경우에는 낮은 농도의 암모니아에서도 독성저해 영향을 미쳤으나 충분히 적응이 될 경우 UAN = 332 mg/L(TAN = 1,092 mg/L)의 암모니아 농도에서도 정상적인 COD 제거효율과 biogas 생성량을 얻을 수 있었다. T-P는 전 운전기간에서 21 ~ 71 mg/L로 유입수의 수질과 비슷하였고 총질소와 마찬가지로 미생물의 세포성장에 이용되었지만 유입수 농도에 비교하여 정량적 분석이 어려울 정도로 작았던 것으로 나타났다.

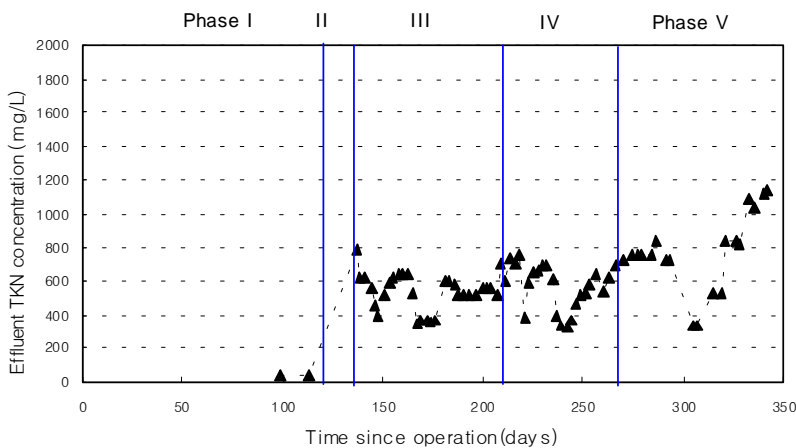


Figure 3-22. Effluent TKN concentration since the start-up operation

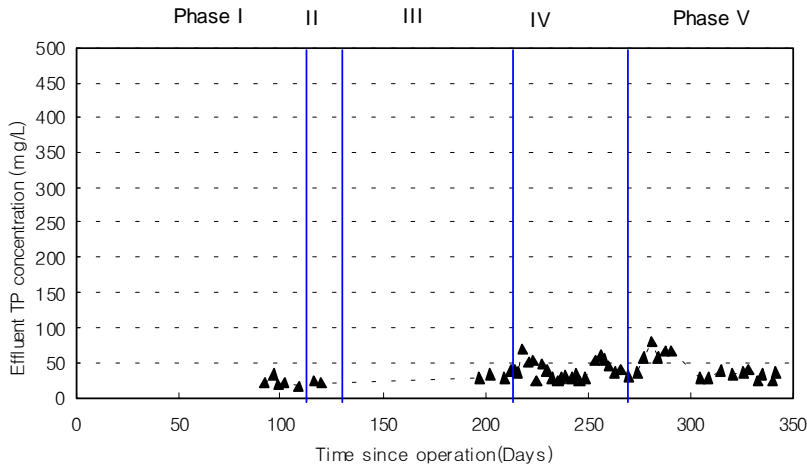


Figure 3-23. Effluent T-P concentration since the start-up operation

#### 라) Biogas production

Biogas 생성량은 ASBF-Control반응기와 마찬가지로 표준상태(0°C, 1atm)를 기준으로 정량하였으며, 그 결과는 Figure 3-24에 나타내었다. Biogas 발생량은 유입폐수의 성상에 따라 유입초반에는 발생되지 않다가 후반에는 각 기간별 평균 1일 발생량은 phase III 기간 31.6 L/d, phase IV 기간 17.4 L/d, phase V 기간 18.9 L/d로 일정한 발생율을 보였고, 이때의 biogas yield는 phase III ~ V 기간까지 각각 0.386 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, 0.179 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, 0.257 m<sup>3</sup>/kg COD-removed였으며, CH<sub>4</sub> yield는 각각 0.214 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, 0.153 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, 0.213 m<sup>3</sup>/kg COD-removed 로 일정하게 나타났다. 유입수의 기질이 sucrose에서 축산폐수로 바뀐 phase II 기간에는 약 10일 동안 COD 제거, biogas가 전혀 발생되지 않았다. 이러한 결과는 미생물이 쉽게 분해할 수 있는 sucrose에서 난분해성 유기물질과 독성물질을 포함한 축산폐수의 갑작스런 기질 변화에 기인한 것으로 생각된다.

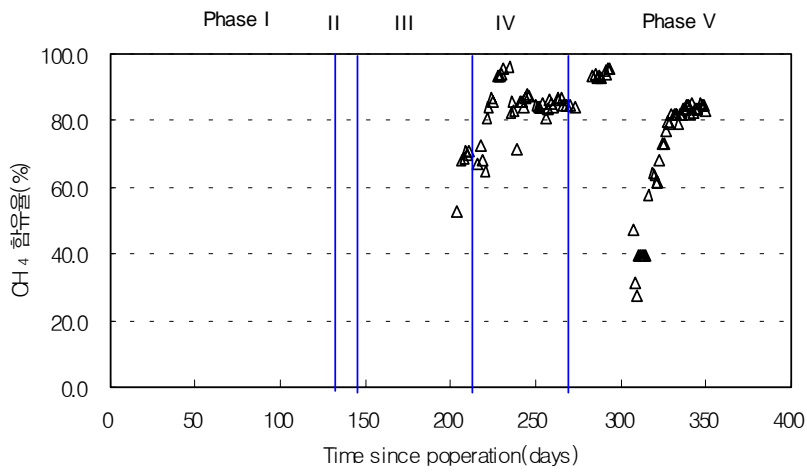
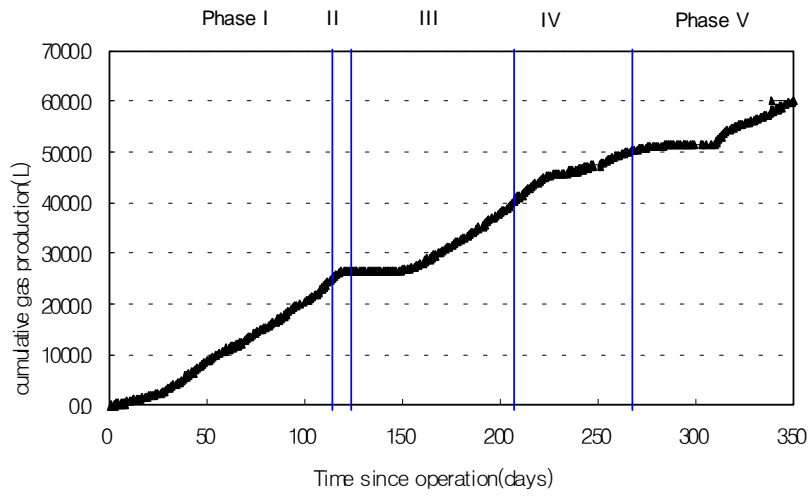


Figure 3-24. Cumulative gas production & CH<sub>4</sub> composition since the start-up operation

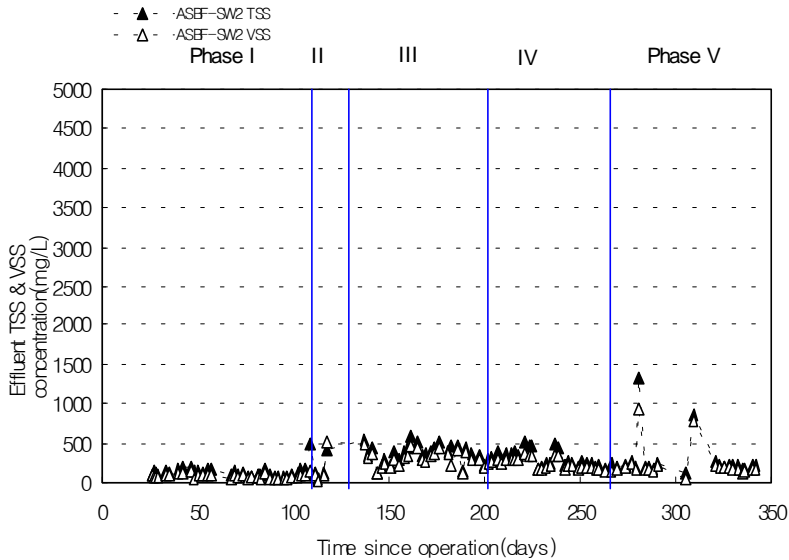


Figure 3-25. Effluent SS concentration since the start-up operation

마) 생물반응기내 Biomass 보유능력

유출수내 biomass농도 분포는 Figure 3-25와 같다. 운전 전체 기간 동안 50 ~ 500 mg/L로 일정한 수질을 나타내었고 이러한 결과 filter media인 pall ring 의biomass 보유능력이 우수함을 알 수 있었다.

바) 이단 혼합형 ASBF 생물반응기의 유입수에 대한 성능비교

미생물이 쉽게 분해할 수 있는 기질인 sucrose를 유입수로 사용하였을 때와 실제 축산폐수를 유입수로 사용하였을 때 two-stage 혼합형 ASBF 생물반응기의 성능을 유사한 OLR에서 COD 제거율과 biogas발생량을 비교 하였으며, 그 결과를 Table 3-11에 나타내었다. Sucrose를 유입수로 사용하였을 경우에 COD 제거율은 91.4%, biogas yield는 0.442 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, CH<sub>4</sub> yield는 0.232 m<sup>3</sup>/kg COD-removed였고, 축산폐수를 유입수로 사용하였을 경우에 COD 제거율은 73.8%, biogas yield는 0.173 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, CH<sub>4</sub> yield는 0.153 m<sup>3</sup>/kg COD-removed로 축산폐수를 기질로 사용할 때 효율이 저조하였다. 이러한 결과는 축산폐수의 난분해성 유기물질과 독성물질인 암모니아를 함유하고 있어 혐기

성 미생물에 독성저해 현상을 일으킨 것으로 판단되며, 축산폐수의 혐기성 처리 시 공정의 효율적인 운전과 양질의 메탄을 생산하기 위해서는 암모니아성 질소의 사전제거가 필수적인 것으로 판단된다.

Table 3-11. Performance comparison of anaerobic bioreactors at the steady-state condition

Bioreactor	OLR (kgCOD/m <sup>3</sup> ·d)	COD Removal (%)	Biogas yield (m <sup>3</sup> /kgCOD)	CH <sub>4</sub> gas yield (m <sup>3</sup> /kgCOD)
ASBF-C	4	91.4	0.442	0.232
ASBF-SW	3.3	73.8	0.173	0.153

### 3. Full-scale 이단 혼합형 ASBF system

현장 실증용 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 이단 혼합형 ASBF 공정 system의 설치를 위하여 충남 홍성군 소재 개척농장(축주 박호은)을 선정하였다. 개척농장의 선정은 2002년 10월에 이루어졌으며 부지사용의 용이함, 축주의 축산폐수 처리에 대한 인식과 의지, 기존 축산분·뇨 처리시설과의 호환성, 그리고 발생하는 메탄사용의 가능성을 기준으로 하였다. 개척농장은 모돈 300여두를 사육하고 있으며 자돈(2개월만 사육)을 합하면 평균 800여두를 유지하고 있는 축가로서 양돈 분·뇨 처리를 위한 퇴비화 시설을 갖추고 있으나, 수분조절제로 사용되는 톱밥의 절대량 부족과 고가로 인하여 분·뇨를 분리, 발생하는 축산폐수 처리시설을 설치하는 준비단계에 있었다.

개척농장에서 발생하는 축산폐수는 가을과 겨울을 포함하는 2002년 10월부터 2003년 4월까지 약 6개월간 특성을 조사하였다. 발생량은 평균 10 m<sup>3</sup>/d 이었으며 특성을 분석한 결과 COD<sub>Cr</sub> 6,200(2,760 ~ 8,390) mg/L, SS 9,600(5,400 ~ 19,000) mg/L, T-N 1,650(1,430 ~ 1,850) mg/L, 그리고 T-P 96(75 ~ 115) mg/L로서 lab-scale 이단 혼합형 ASBF 공정 연구에 이용된 축산폐수보다 발생량은 많았으며 SS는 높았지만 다른 오염물질은 낮은 경향을 보였으며 주 원인으로 모돈과 자돈 축사이므로 세척수의 사용이 비교적 많았던 것으로 판단된다. 발생하는 축산폐수는 고농도의 유기물질(COD 3,000 ~ 8,000 mg/L)을 함유하며 이단 혼합형 ASBF 공정 system에 의한 처리에서 COD의 제거율이 90%의 경우에도 유출수의 COD는 300 ~ 800 mg/L로 2000년 1월부터 시행되는 방류수수질기준인 BOD 150 mg/L(허가대상 축가)와 350 mg/L(신고대상 축가)를 만족하지 못하며 조만간에 실시될 방류수수질기준으로 영양염류인 질소·인의 규제가 강화되면 추가적인 유기물질과 질소·인을 제거하기 위한 후처리는 반드시 필요하게 된다. 따라서, 개척농장은 이단 혼합형 ASBF 공정 system을 설치하면서 방류수수질기준을 만족하지 못할 경우를 고려하여 (1) system에 혐기성 소화인 ASBF의 전처리로서 혐기성 소화 미생물에 독성/저해작용을 하는 암모니아를 제거하는 공정과 (2) 이단 혼합형 ASBF 유출수의 후처리로서 방류수수질기준을 만족하기 위한 막분리를 추가하도록 권고하였다. 따라서 본 연구의 실증용 이단 혼합형 ASBF system은 상기 2개의 공정인 암모니아 제거와 막분리 공정을 by-pass될수 있도록

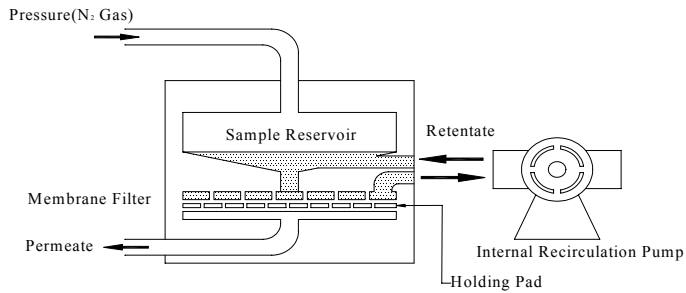
록 추가하였다.

가. 암모니아 제거 전처리와 와 막분리의 후처리 공정

암모니아의 제거를 위한 혐기성 소화의 전처리는 암모니아( $\text{NH}_4^+$ )를  $\text{Mg}^{2+}$ 와  $\text{PO}_4^{3-}$ 와 반응시켜 MAP(magnesium ammonium phosphate, 일명 struvite)로 침전하는 공정으로 본 연구의 연구책임자의 타 프로젝트 연구결과에서 얻은 10  $\text{m}^3/\text{d}$  규모의 full-scale에 대한 MAP 침전시설에 대한 설계 자료는 다음과 같다. MAP 반응조의 HRT는 0.5 hr으로 0.5  $\text{m}^3$ 의 반응조 2개 필요하고  $\text{MgCl}_2\text{-H}_3\text{PO}_4$  혼합용액을 N:Mg:P의 몰비 1:1.2:1으로 정량펌프에 의하여 주입한 뒤 50% NaOH 용액으로 pH를 8.5로 조절하고 40 rpm으로 완전 혼합하도록 한다. MAP와 SS의 공침을 위하여 2.5 hr의 HRT가 필요하므로 침전조의 부피는 1  $\text{m}^3$ 으로 하며 slow mixing(2 rpm)에 의하여 침전을 돕도록 하며 침전조 하부로 슬러지를 배출하도록 한다.

분리막을 이용한 막분리는 과거에는 비용이 많이 든다는 문제로 인하여 화학 공정에서 순수물질을 분리하는데 이용되는데 국한되어 왔지만 전반적인 기술의 발전으로 분리막의 가격이 낮아지고 있으며 폐수처리에 이용되는 수준에 도달되고 있다. 분리막의 용질분리에 대한 이론은 preferential sorption capillary flow mechanism이 있으며 이 기작에서 용질은 막에 선택적으로 수착되어 공극으로 확산에 의하여 용액으로부터 분리된다고 하였다. 분리막은 공극의 크기에 따라 microfiltration, nanofiltration, 그리고 reverse osmosis으로 분류되며 공극의 크기가 작아질수록 높은 압력을 가하여야 하며 permeate flux도 작고 막의 막힘 현상이 (fouling) 크다. 축산폐수의 이단 ASBF 공정의 유출수에 막분리가 적용되기 위하여 유출수의 특성(유기물의 분자량 분포, fouling agent의 유무, TDS)에 의한 분리막의 선정, 선정된 분리막의 운전조건 확립, 그리고 fouling에 의한 permeate flux 감소에 대한 운전 분석 및 fouling시 세척 시기와 방법에 대한 조건의 확립이 중요한 인자가 된다. 후처리인 막분리 공정에 사용될 막의 종류를 선택하기 위하여 축산폐수와 OLR 4.0  $\text{kgCOD}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$  그리고 HRT 1일로 운전된 lab-scale 이단 ASBF 공정의 유출수에 함유된 유기물을 Fig. 3-26과 같은 TCF-10 (Amicon corp.)에 의하여 분자량 분획 1,000(YM1), 3,000(YM3), 5,000(YM5), 10,000(YM10), 30,000(XM50), 100,000(YM100)와 300,000(XM300)의 한외여과(ultrafiltration) 막에 의하여 분자량분포를 조사하고 permeate flux와 fouling을 조사하였으며 그 결과를 Fig. 3-27에 도시하였다. Fig. 3-27에 보이는





바와 같이 이단 ASBF 공정 bioreactor 유출수 유기물Figure 3-26. TCF-10 ultrafiltration system to fractionate organic matter in swine wastewaters based on size(molecular weight cut-off)

의 50%는 분자량이 300,000 dalton 보다 큰 것으로 나타나 있으며 분자량이 1,000 ~ 300,000 dalton인 유기물도 40% 정도 차지하고 있다. 따라서, 이단 혼합형 ASBF 공정 bioreactor 유출수를 방류수수질기준을 만족하고 막의 막힘 현상을 줄이기 위하여 공극이 크고( $\mu\text{m}$  size) fouling이 적으며 permeate flux가 큰 micro-filtration과 분자량 분획 500 dalton 정도의 nano-filtration을 연속적으로 선택하는 것이 유기물질과 질소·인을 효과적으로 제거하고 fouling이 작은 운전 조건인 것으로 판단되었다.

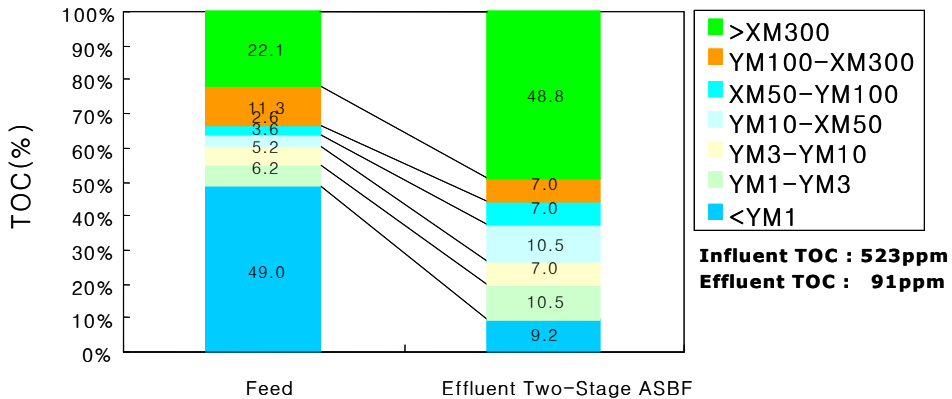


Figure 3-27. Size distributions based on molecular weight cut-off of organic matter in swine wastewaters of two-stage ASBF

bioreactors

나. Full-scale(실증용) 이단 혼합형 ASBF System

1). 이단 혼합형 ASBF system의 설계

Lab-scale 이단 혼합형 ASBF system 운전 결과 축산폐수 처리를 위한 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 full-scale 이단 ASBF 공정 system에 대한 설계 자료는 다음과 같다. 이단 ASBF system의 설계유량은 10 m<sup>3</sup>/d 그리고 설계수질은 pH 8.4(7.5 ~ 9.4), Alkalinity 12,000(8,400 ~ 14,000) mg/L as CaCO<sub>3</sub>, COD 6,200(2,760 ~ 8,390) mg/L, SS 9,800(5,400 ~ 19,000) mg/L, T-N 1,650(1,430 ~ 1,850) mg/L, 그리고 T-P 96(75 ~ 115) mg/L로 산정되었다. 특히 T-N과 T-P은 MAP 침전에서 일부 제거되므로 ASBF bioreactor의 설계수질은 각각 360 mg/L와 60 mg/L로 산정되었다. ASBF 혐기성 소화조에서 HRT(수리학적체류시간)를 1일로 하고 OLR(유기물부하량)를 10 kgCOD/m<sup>3</sup>·d로 한다면 각 단의 ASBF 혐기성 소화 반응기는 5 m<sup>3</sup>으로 산출된다. 계획 처리수 수질로서 COD 20 mg/L, SS 20 mg/L, T-N 60 mg/L, 그리고 T-P 8 mg/L로 설정하였으며 ASBF 혐기성 소화에서 COD 제거율을 80%로 환산하면 제거된 COD 기준 biogas 발생량은 59 m<sup>3</sup>/d로 산정되며 메탄으로 환산하면 41 m<sup>3</sup>/d가 된다. 암모니아 제거와 막분리 공정을 추가한 이단 혼합형 ASBF system의 개념적인 공정도는 Fig. 3-28과 같으며 상세한 설계도는 Figs 3-29에서 3-40에 수록되었다.

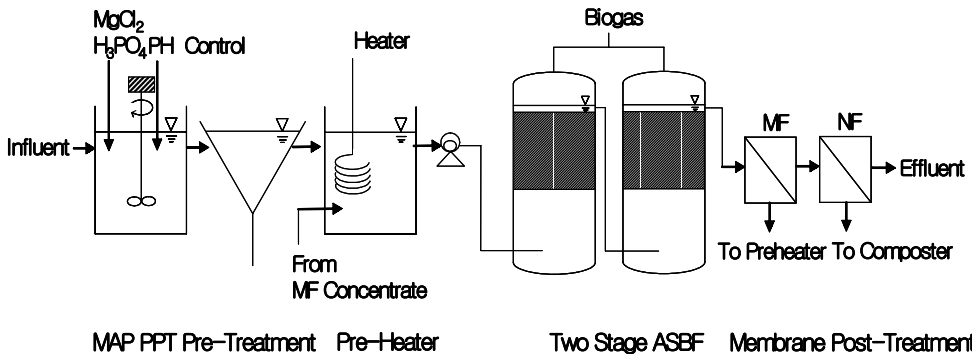


Figure 3-28. Conceptual schematics of two-stage ASBF system with ammonia removal pretreatment and membrane process for effluent polishing





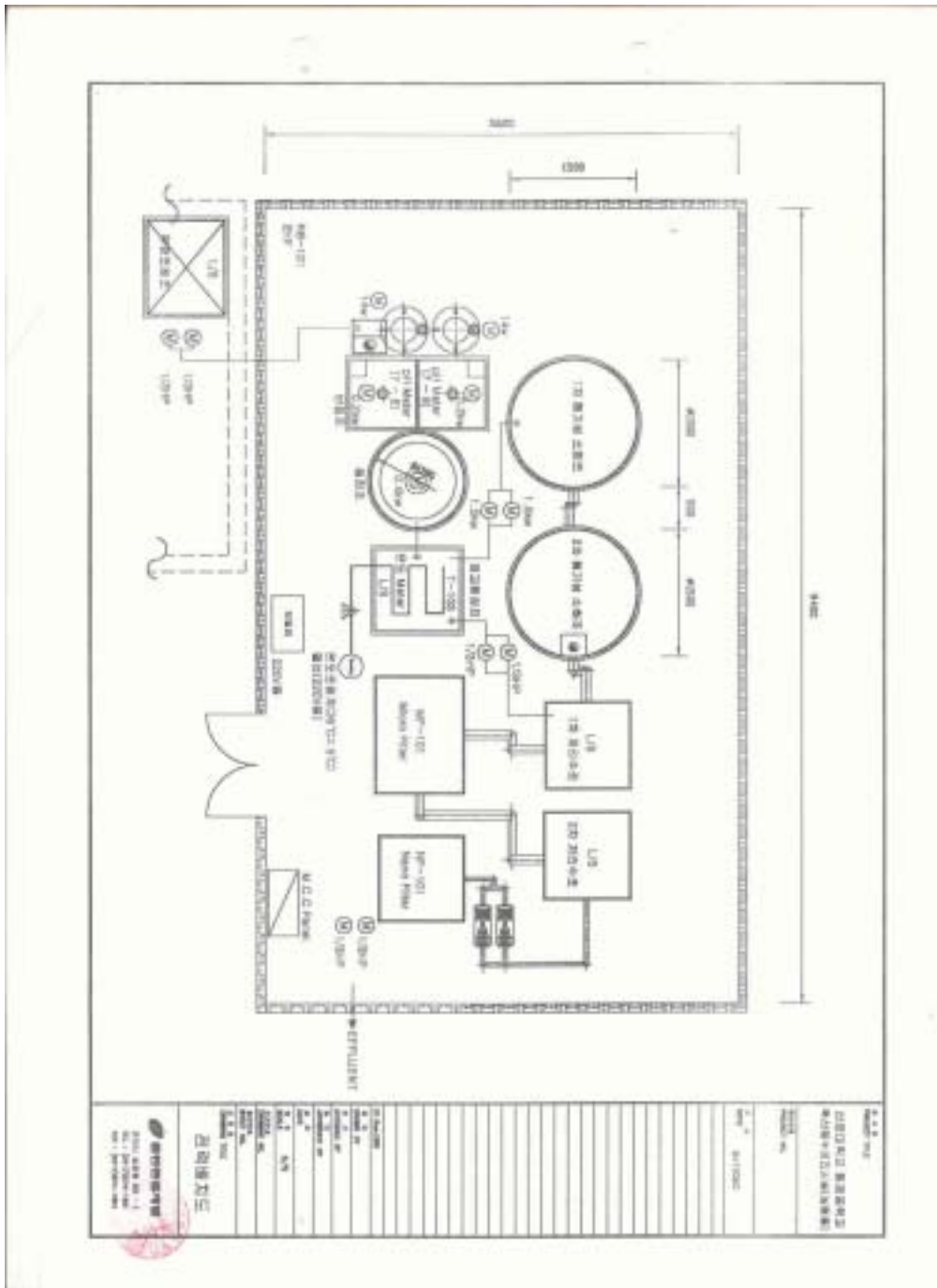


Figure 3-31. Electrical diagram of two-stage ASBF system

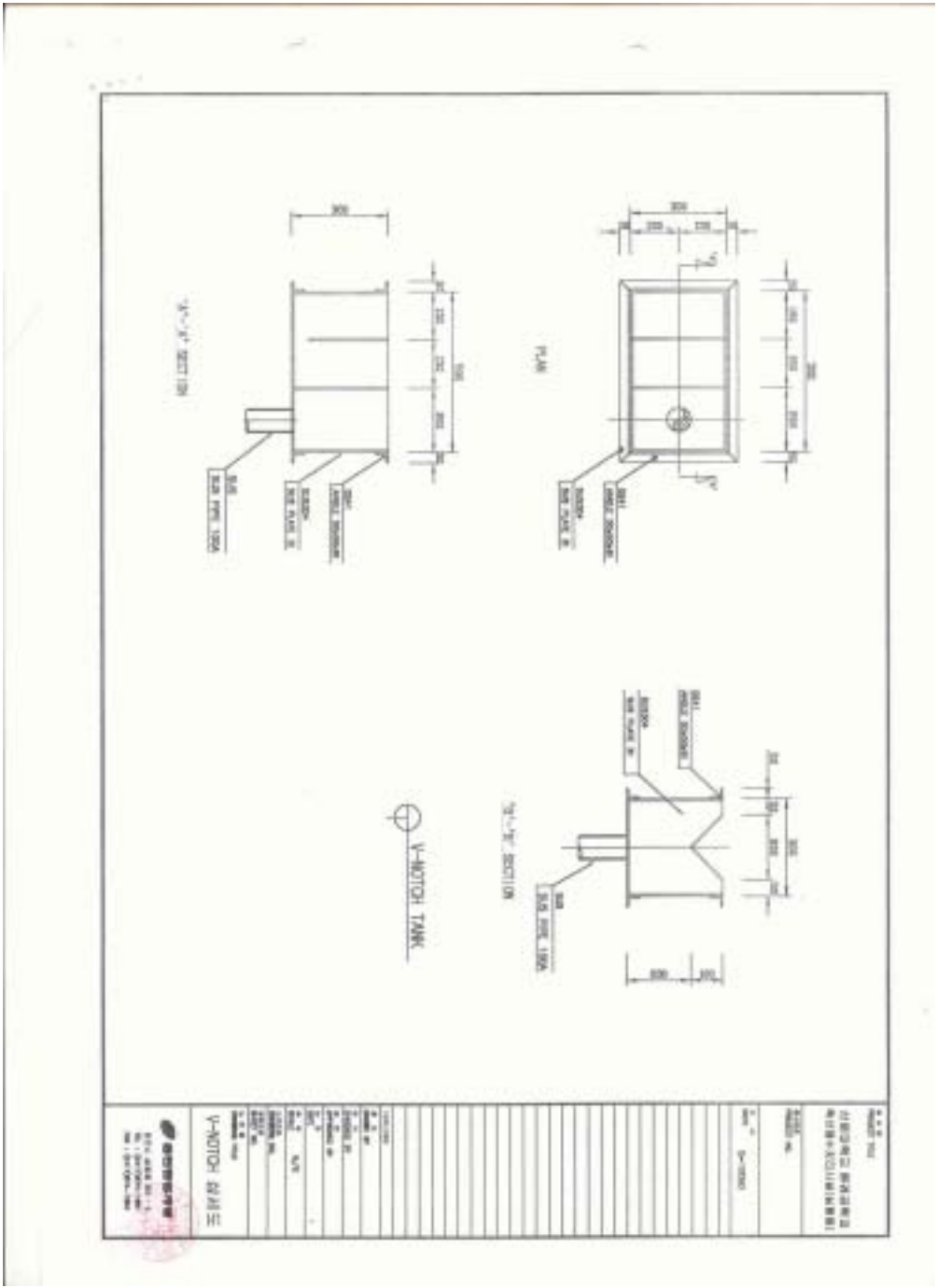


Figure 3-32. Design of reaction tank(V-notch) of two-stage ASBF system





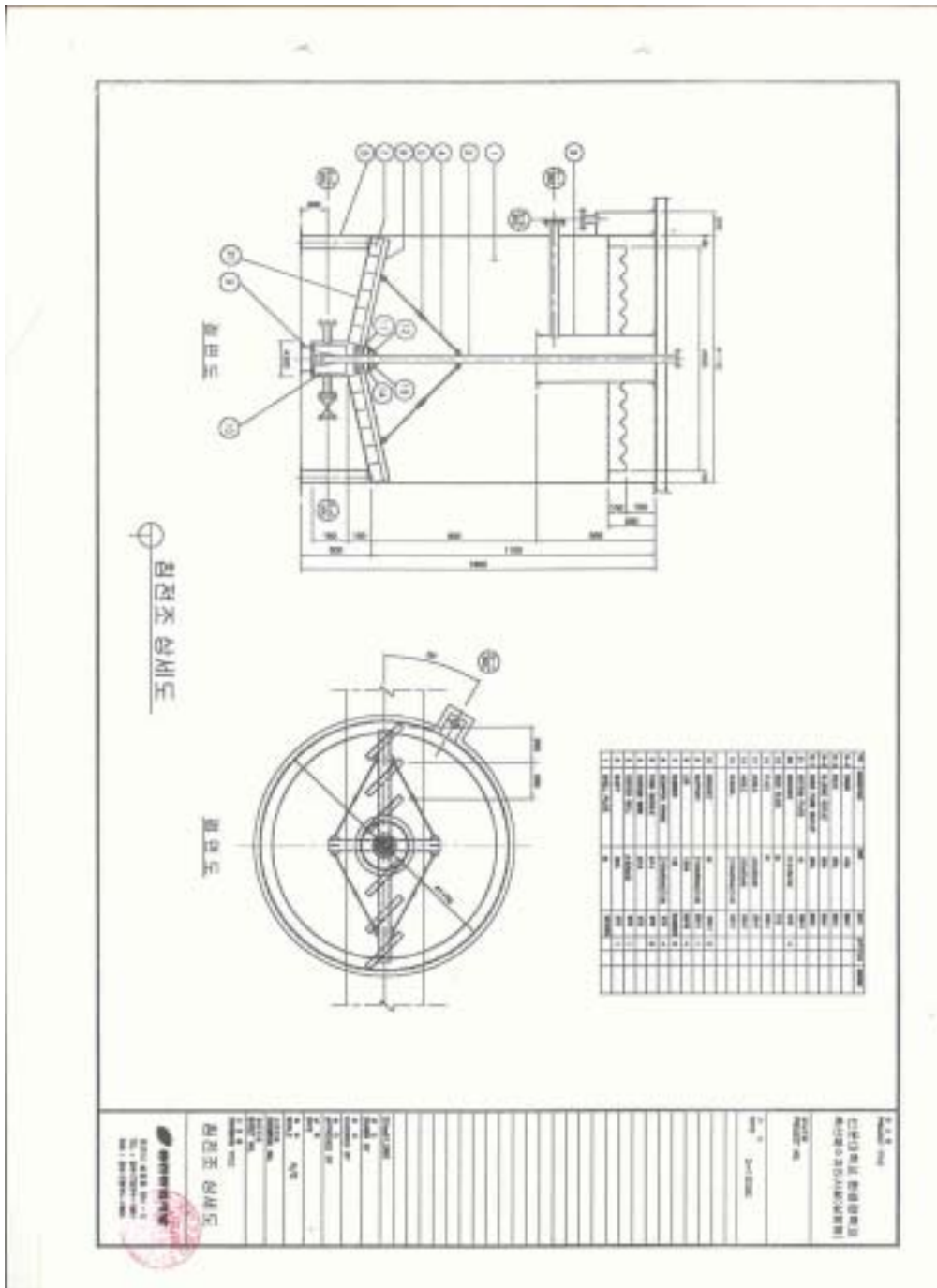


Figure 3-34. Design of precipitation tank of two-stage ASBF system

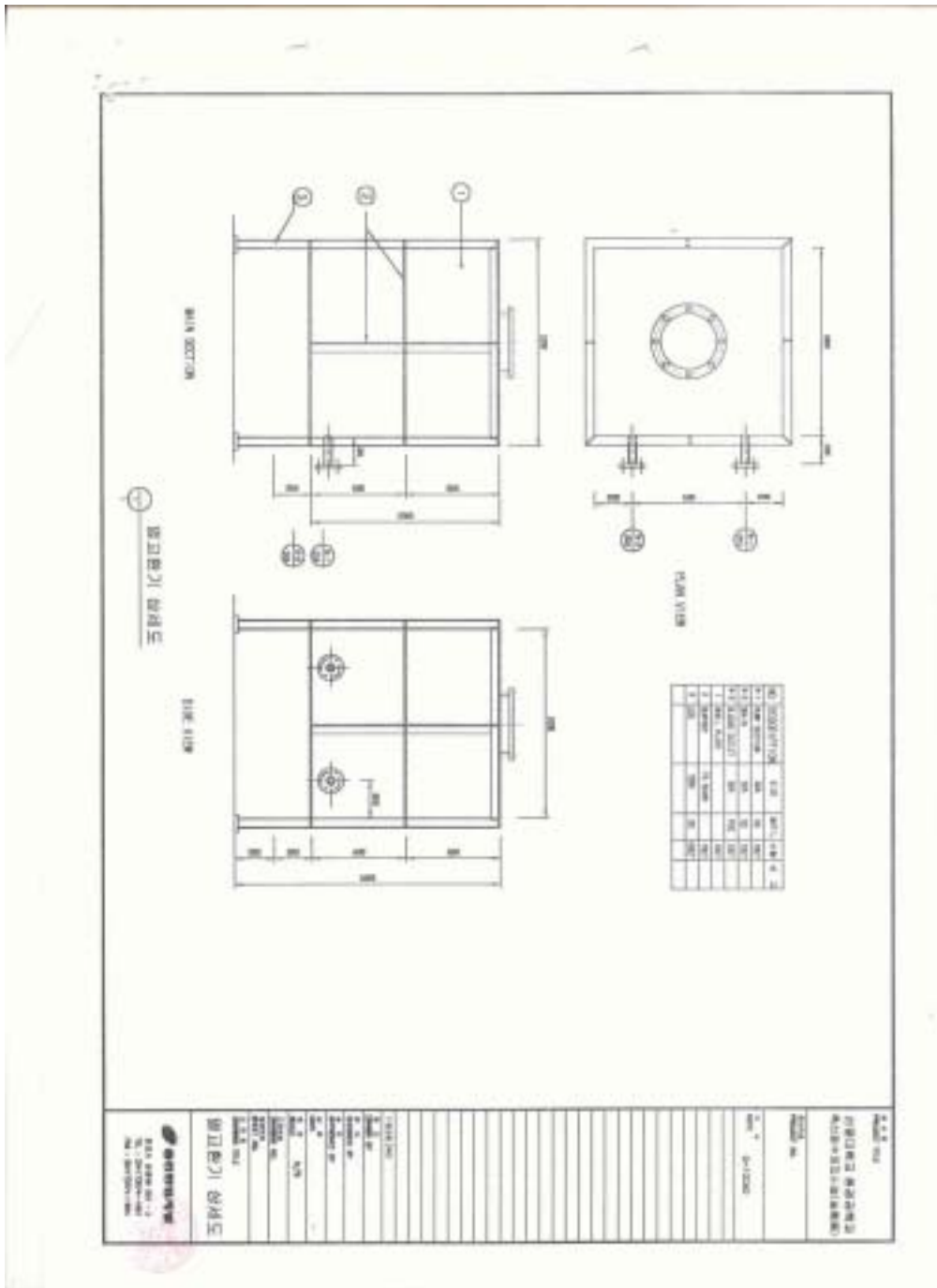


Figure 3-35. Design of heat exchanger of two-stage ASBF system

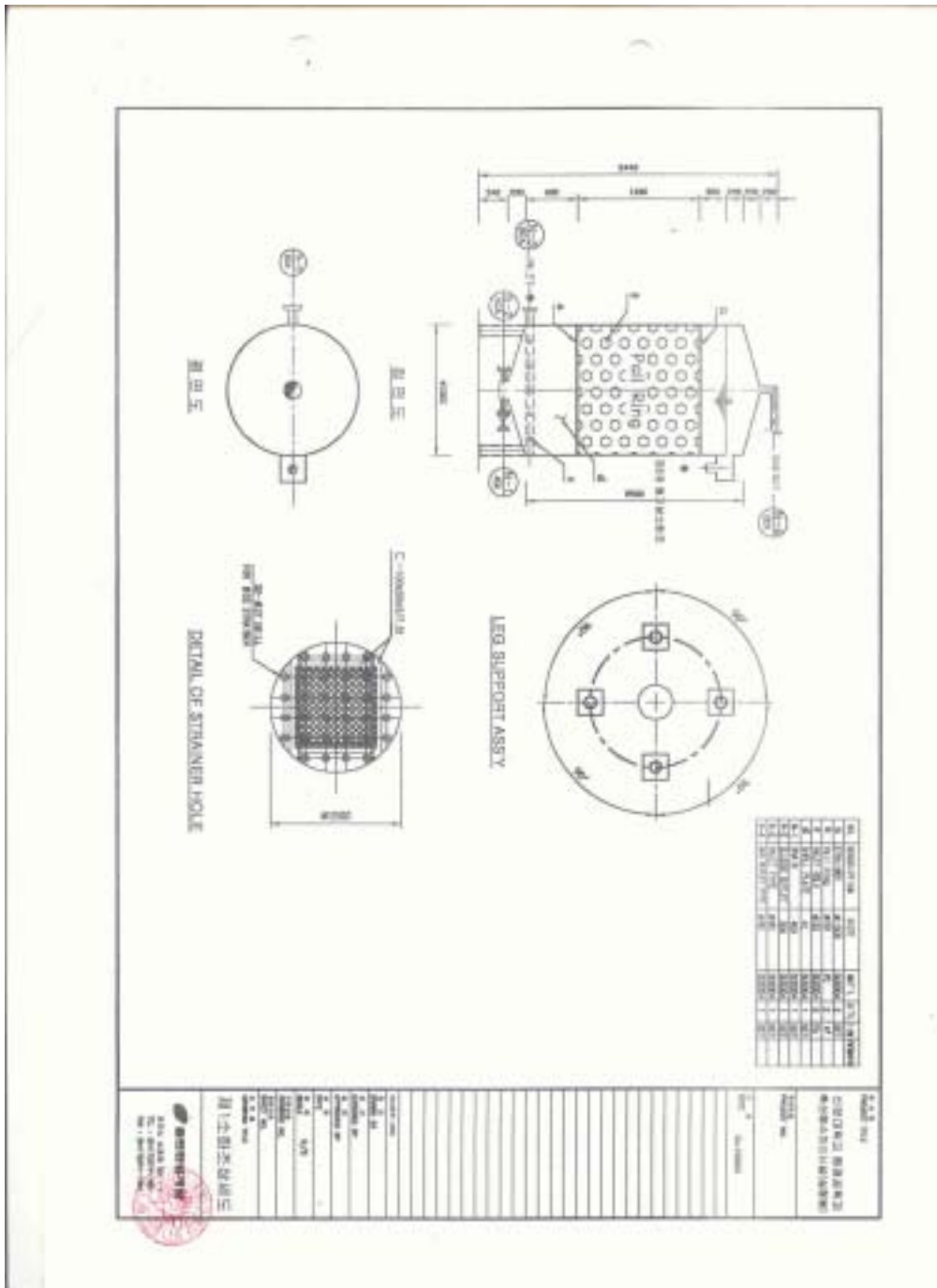


Figure 3-36. Design of 1st anaerobic bioreactor of two-stage ASBF system

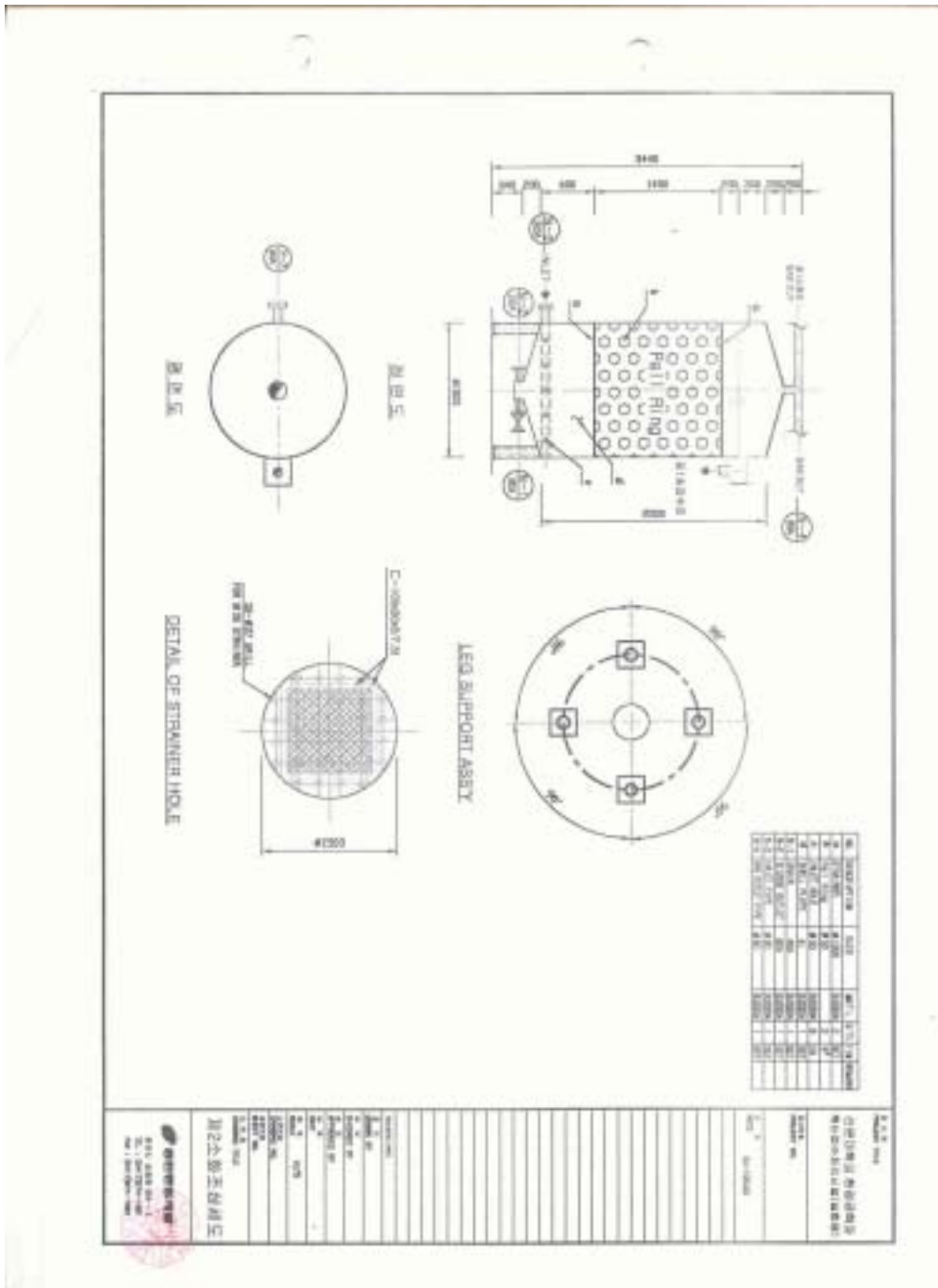


Figure 3-37. Design of 2nd anaerobic bioreactor of two-stage ASBF system

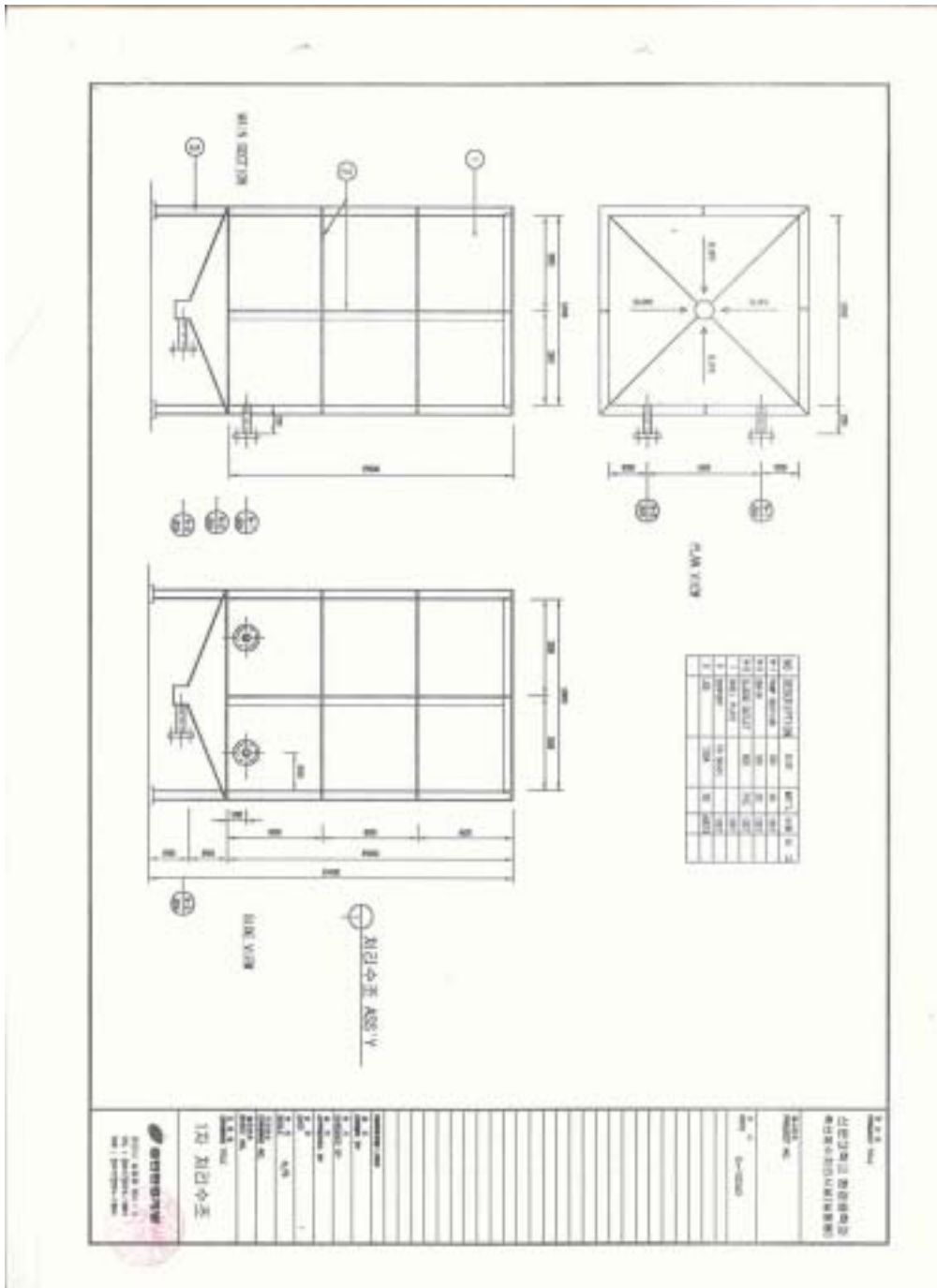


Figure 3-38. Design of holding tank for MF of two-stage ASBF system

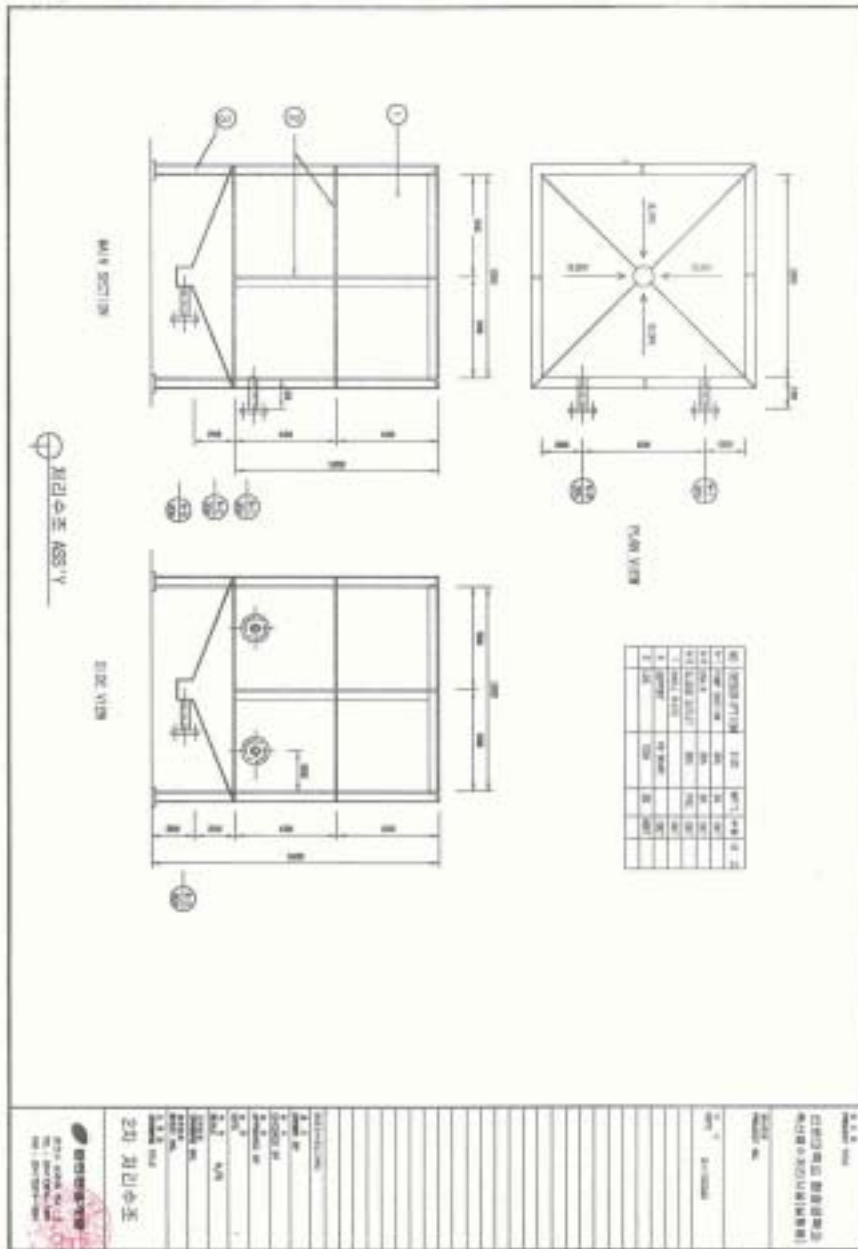


Figure 3-39. Design of holding tank for NF of two-stage ASBF system



## 2) system의 제작 및 시운전

현장 실증용 full-scale 10 m<sup>3</sup>/d 규모 이단 혼합형 ASBF system은 제1,2절의 연구내용과 제3절의 가항에서 설계 자료에 scale-up 인자를 감안하여 작성한 개념도와 상세도면에 따라 2003년 3월에 공사를 시작하였으나 구제역과 콜레라 그리고 기술상의 문제(한전에서 3상 전기의 설치 지연) 등으로 인하여 2개월이 걸려서 5월 초에 완공되었다. 현장 실증용 full-scale system의 공정도를 보면 폐수집수조(기준에 추가에 존재하던 지하 폐수 집수조), reaction tank(MAP 반응조)와 2개의 chemical tank, 침전조, 예열조, 일단 ASBF, 이단 ASBF, 그리고 막분리인 nanofiltration이 있다. Fig. 3-41은 추가의 전경을 보여주는 사진으로 가운데에 이단 혼합형 ASBF system이 위치한 건물을 보여주고 있으며 Figure 3-42는 system의 전반부 전체를 보여주는 사진으로 reaction tank(MAP 반응조)와 2개의 chemical tank, 침전조, 그리고 예열조를 보여준다. 각각에 대한 상세한 사진은 Figs. 3-43에 수록하였다. Fig. 3-44는 이단 ASBF 공정, 그리고 Fig 3-45는 막분리 공정의 사진을 수록하였다.

현장 실증용 full-scale 이단 혼합형 ASBF system은 2003년 5월에 초에 완공되었으며 약 2주일의 무부하 시운전(전기 test와 기밀 test)과 지하수에 의한 부하 시운전(수리학적 test) 기간을 거친 후 2003년 5월 29일 제4장의 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 배양 세부과제에서 대량 배양된 암모니아 내성 혐기성 미생물 1 m<sup>3</sup>(TSS 25 g/L, volatility 75%)을 이단 혼합형 ASBF 반응기(각 단의 반응기에 0.5 m<sup>3</sup>씩)에 접종하고 홍성군의 축산폐수종말처리장의 혐기성 소화조의 슬러지를 10 m<sup>3</sup>(TSS 28 g/L, volatility 65%, NH<sub>3</sub>-N 3,650 mg/L)을 운반 각단의 ASBF 공정 반응기에 5 m<sup>3</sup>씩 투입 식종하고 집수조로부터 축산폐수 2.5 m<sup>3</sup>/d를 system에 유입하면서 시운전 시작하였다.

이단 혼합형 ASBF system의 유출수 75%를 예열조로 순환하여 주입된 식종 슬러지의 유출을 방지하도록 하였다. 유출수 25%는 nanofiltration에 의하여 처리하고 방류하도록 하였다. 식종 후 매일 이단 ASBF 반응기의 biomass(SS)와 biogas 발생량을 wet gas meter에 의하여 분석하였으나 약 2개월이 지난 2003년 7월 말에도 biogas의 발생 현상은 없었다. 축산폐수 유입수, 반응조(MAP)와 침전조 유출수, 일단 혼합형 ASBF 유출수, 이단 혼합형 ASBF 유출수 그리고 막분리 유출수 시료를 채취 COD, SS, T-N, T-P를 분석한 결과는 Table 6-1에 수록하였지만 시운전 단계에 있으므로 자료로서 가치는 없었다.





Figure 3-41. View of pig farm and two-stage ASBF system in containment



Figure 3-42. Front part of two-stage ASBF system (From right, reaction tank with 2 chemical tanks with pumps, sedimentation tank, heater exchanger)



Figure 3-43. Detailed pictures of front part of two-stage ASBF system  
(From bottom to top : reaction tank with two chemical tanks with pump, sedimentation tank, and pre heater tank)



Figure 3-44. Two-stage ASBF bioreactors with two mono pumps and control system



Figure 3-45. NF membrane system with control pane

Table 3-12. Monitoring 10 m<sup>3</sup>/d full-scale two stage hybrid ASBF system during the 2 months of start-up operation

Parameters	Influent	Effluent of MAP Precipitation	Effluent of 1st ASBF	Effluent of 2nd ASBF	System Effluent
COD	6,200 (2,760 ~ 8,390)	3,790 (1,550 ~ 5,920)	2,600 (1,830 ~ 3,880)	1,850 (1,120 ~ 3,260)	140 (80 ~ 260)
SS	9,600 (5,400 ~ 19,000)	920 (850 ~ 1,840)	910 (640 ~ 1,240)	1,180 (580 ~ 4,250)	2 (0 ~ 5)
T-N	1,650 (1,430 ~ 1,850)	440 (100 ~ 710)	1,260 (1,000 ~ 1,430)	1,160 (900 ~ 1,370)	250 (180 ~ 430)
T-P	96 (75 ~ 115)	77 (43 ~ 108)	68 (57 ~ 97)	60 (52 ~ 83)	30 (12 ~ 78)

### 제 3 절 결 론

축산폐수의 효율적 처리와 최적 메탄 발생을 위하여 lab-scale 이단 혼합형 ASBF system의 구성에 있어서 이단화와 filter media에 대한 영향을 분석한 결과 응용된 5기의 혐기성 소화 생물반응기는 COD 제거율 66.4~84.9% 그리고 biogas 발생량은 제거된 COD 기준  $0.333\sim 0.796 \text{ m}^3/\text{kgCOD} \cdot \text{d}$ 로 축산폐수의 처리에 효율적이었으며 유입 COD의 증가와 HRT의 감소에 의한 유기물부하 증가의 경우 COD 제거율은 감소하고 biogas 발생량은 증가하였다. 혐기성 소화 반응기 유입수 T-N(90% 이상이  $\text{NH}_3\text{-N}$ )의 농도가 1,540~1,870 mg/L 범위에서 메탄 발효 미생물의 활성은 저해영향을 받아 생물반응기의 처리효율과 biogas 발생량은 각각 50% 이하로 감소되는 것으로 나타났으므로 혐기성 소화가 축산폐수의 처리에 주 공정으로 응용된다면 전처리에 의한 T-N의 제거는 필수적이다. 비교적 높은 OLR에서 UASB, AF, ASBF-PR 혐기성 소화 반응기의 처리효율은 비슷하였고 ASBF-SP와 ASBF-MO보다 우수하였다. 그러나, 축산폐수 처리시설의 대상으로 ASBF-PR이 가장 우수하여 유입수의 T-N을 제거한 전처리를 비교하는 연구를 수행하게 되었다. UASB의 경우 biomass의 입상화는 이루어지지 않았으며 반응기에 고·액·기상 분리시설을 갖추어야 하는 단점이 있었으며 AF의 경우 반응기에 슬러지(biomass와 inactive 슬러지)의 축적으로 단락류와 filter media의 막힘 현상이 나타나서 운전이 어려움이 예상되었다. 축산폐수 처리를 위한  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  규모의 full-scale 이단 혼합형 ASBF system에 대한 설계자료는 다음과 같다. 이단 ASBF system에 유입될 축산폐수의 T-N( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) 제거는 필수적이며 T-N이 제거된 축산폐수의 발생량을  $10 \text{ m}^3/\text{d}$ , 특성은 COD 10,000 mg/L, SS 500 mg/L, T-N 360 mg/L, 그리고 T-P 60 mg/L로 산정하고 HRT를 1일로 하고 OLR를  $10 \text{ kgCOD}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ 으로 한다면 각 단의 ASBF 혐기성 소화 반응기는  $5 \text{ m}^3$ 으로 산출된다. COD 제거율을 80%로 환산하면 제거된 COD 기준 biogas 발생량은  $59 \text{ m}^3/\text{d}$ 로 산정되며 메탄으로 환산하면  $41 \text{ m}^3/\text{d}$ 가 된다.

고유기물 부하에서 이단 혼합형 ASBF system에 대한 암모니아의 영향을 연구를 위하여 sucrose를 기질로 이용한 ASBF-Control과 암모니아의 농도가 높은 실제 축산폐수를 기질로 한 ASBF-SW를 OLRs 2, 4, 6,  $10 \text{ kgCOD}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ 로 증가시키면서 운전하여 성능을 비교하였다. 각 system의 적응 기간은 약 40 ~ 55일 소요되었으므로 full-scale system은 이보다 장기간 소요될 것으로 판단된다.

ASBF-Control 반응기의 OLR 증가(2에서 6 kgCOD/m<sup>3</sup>·d)에 따른 평균 COD 제거효율은 94.4%에서 87.5%로 높은 제거효율을 나타내었으며 유출수내 VFAs 농도는 1단 반응기에서 78 ~ 3,234 mg/L as acetic acid로 2단 반응기에서 16 ~ 1,104 mg/L 보다 높게 나타나 산생성조와 메탄 생성조의 상분리가 확실하게 나타났다. OLR 10 kgCOD/m<sup>3</sup>·d에서는 평균 COD제거율이 49.7%로 낮은 효율을 보였고, biogas중 CH<sub>4</sub> 함유량이 감소되어 메탄 생성이 저하되는 것으로 보아 과부하 현상이 나타난 것으로 생각된다. 또한 VFAs 농도는 1단에서 4,047 mg/L, 2단에서는 3,355 mg/L까지 증가되어 2단이 산생성조로의 전환과 더불어 상분리가 되지 않았다. ASBF-Control 반응조의 과부하 후 HRT 2일로 증가시켜 OLR 5 kgCOD/m<sup>3</sup>·d로 운전한 결과 56일 만에 COD 제거율 90%이상을 유지하고 이때의 CH<sub>4</sub> 함유율은 증가 하였고, 2단의 VFAs농도는 180 mg/L이하의 수질로 안정적으로 상분리가 되는 것으로 보아 비교적 단기간에 이단 혼합형 ASBF 반응기의 완벽한 recovery가 이루어 졌음을 알 수 있었다. ASBF-SW 반응기의 OLR 증가(2에서 6 kgCOD/m<sup>3</sup>·d)에 따른 평균 COD 제거효율은 96.6% ~ 73.3%로 나타났으나 갑작스런 기질변화와 높은 농도의 암모니아의 유입으로 반응기의 운전을 실패한 기간이 존재하였다. 실패한 기간 중에는 COD 제거율은 0%이었고 biogas도 발생하지 않았지만 미생물의 적응을 위하여 축산폐수의 비율을 낮추고 sucrose를 혼합하여 운전한 결과 일정한 기간 후 COD 제거효율과 biogas 발생량을 정상으로 회복하였다. 각 기간별 TKN의 농도를 검토한 결과 이단 혼합형 ASBF system에 축산폐수를 적용하는 경우 높은 농도의 암모니아 유입되더라도 미생물을 다량 보유하고 있으면 어느 정도 적응기간 후에는 공정의 안정적인 운전이 가능함을 알 수 있었다. ASBF-Control과 ASBF-SW반응기의 성능을 비교한 결과 ASBF-Control 반응기의 COD 제거효율은 91.4%, biogas yield는 0.442 m<sup>3</sup>/kg COD-removed, CH<sub>4</sub> gyield는 0.232 m<sup>3</sup>/kg COD-removed 였고, ASBF-SW 반응기에서는 COD 제거효율은 73.8%, biogas yield는 0.173 m<sup>3</sup>/kg COD-removed , CH<sub>4</sub> yield는 0.153 m<sup>3</sup>/kg COD-removed로 ASBF-SW반응기의 성능이 훨씬 저하되었으며, 이는 축산폐수내 난분해성 유기물질과 암모니아의 영향으로 반응기의 성능이 더 낮게 나타난 것으로 판단된다.

축산폐수를 효율적으로 처리하고 최적 메탄을 발생할 수 있는 10 m<sup>3</sup>/d 규모의 현장용 이단 혼합형 ASBF system에 대한 설계 자료를 확보, 제작하고 현장에 설치하였다. 그러나 대량 배양된 암모니아 내성 혐기성 미생물과 축산폐수공

동처리장 혐기성 소화조의 슬러지를 식중독 후 약 2개월에 걸쳐 시운전을 하였으나 혐기성 미생물은 아직도 순화단계에 있으며 정상운전까지는 몇 개월이 더 소요될 것으로 판단된다. 본 연구개발사업이 종료되는 시점에 우리나라의 축산업은 대부분 전업 혹은 대기업 규모로 전환될 것이며 개발되는 이단 혼합형 ASBF system을 전업규모의 축산농가에 알맞게 package화함으로서 발생하는 메탄가스의 효과적인 이용을 제고할 것으로 전망된다. 참고로, 우리나라의 육우와 양돈시설에서 배출되는 축산폐수 총 발생량은  $7.3 \times 10^7 \text{ m}^3/\text{년}$  그리고 유기물 오염부하량은  $1.35 \times 10^9 \text{ kgCOD}/\text{년}$ 에 달한다. 혐기성 소화에 의하여 COD가 전부 메탄화된다면( $1 \text{ kgCOD} = 0.25 \text{ kgCH}_4$ ) 메탄발생량은  $3.36 \times 10^8 \text{ kgCH}_4/\text{년}$ 이며 비교적 규모가 큰 전업규모 양돈농가의 경우(돼지 약 1,000두로서 축산폐수 발생량은  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  그리고 축산폐수의 농도는  $18.4 \text{ kgCOD}/\text{m}^3$ 로서 COD 제거율 70%) 메탄 발생량은  $51.5 \text{ m}^3/\text{일}$ 이며 에너지로 환산하면  $440,000 \text{ kcal}/\text{일}$ 로서 반응조를 가열하는데 필요한 에너지를 제외하면  $200,000 \text{ kcal}/\text{일}$ 의 잉여에너지를 생산하게된다. 이와같이 이단 ASBF 공정 system은 적극 권장되어야 할 것이다. 처리용량  $10 \text{ m}^3/\text{d}$ 의 실증규모 이단 ASBF system은 수리학적 체류시간 1일과 유기물부하량  $10 \text{ kgCOD}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ 에서 운전되므로 기존의 어떠한 혐기성 소화공정 보다도 우수하다는 것이 입증될 것으로 판단된다. 이러한 system에 대한 시장성은 충분한 것으로 사료된다.



## 제 4 장 암모니아 내성 혐기성미생물의 분리 및 대량배양 (제2세부과제 - 주관기관 천안외국어대학)

혐기성 소화는 일반적으로 고농도의 유기성 폐수나 슬러지의 처리 및 안정화에 적합한 공정으로 유기물질을 분해하면서 부산물로 대체에너지인 메탄을 발생하는 장점이 있는 반면 관여 미생물은 성장속도가 느리고 환경에 민감한 단점을 가지고 있다. 특히, 혐기성 소화에 관여하는 주요 미생물인 산생성균과 메탄생성균은 pH, 온도 등 환경적 요인과 폐수내 함유되는 독성물질에 민감하다. 혐기성 미생물에 독성물질이라 할지라도 저농도에서는 촉진제 역할을 하고, 농도가 증가하여 일정 농도이상에 이르면 독성작용을 한다고 알려져 있다. 축산폐수나 단백질 함유 폐수 등과 같이 암모니아가 고농도로 함유된 폐수의 혐기성 처리시, 암모니아는 혐기성 미생물에 독성작용을 미쳐 공정의 효율에 저하를 초래한다고 알려져 있다.

폐수에 함유된 암모니아는 pH에 따라 암모늄 이온과 자유 암모니아로 존재하며 분석결과에 의하면 총암모니아 질소(TAN:total ammonium nitrogen), 암모늄 질소(IAN:ionized ammonium nitrogen), 그리고 자유 암모니아 질소(UAN:unionized ammonium nitrogen)로 표현된다. 일반적으로 TAN이 700~3,000 mg/L이면 혐기성 미생물의 활성은 저해되기 시작하고 3,000 mg/L은 한계농도, 4,200 mg/L에서는 모든 세포의 성장이 정지되지만, TAN에 3개월 동안 적응된 경우 7,000~11,800 mg/L에서도 독성/저해 작용이 일어나지 않는 것으로 알려져 있다. pH 7.4이상 TAN 1,500~3,000 mg/L에서 저해작용이 일어나고, 3,000 mg/L이상이면 pH와 상관없이 독성이 나타난다고 보고된 경우도 있다. 주로 혐기성 미생물에 저해/독성 작용을 하는 UAN는 동일한 TAN에서도 온도와 pH 조건에 따라 농도가 달라지며 40~120 mg/L에서 산생성균보다는 메탄생성균의 대사 경로에 치명적인 영향을 미치는 것으로 보고되고 있으나, 3개월의 적응기간을 거친 메탄생성균은 1,100 mg/L에서도 저해/독성작용을 하지 않는 것으로 보고된 경우도 있다. 축산분뇨로 식중한 축산폐수의 혐기성 소화에서 중온소화와 고온소화시 암모니아(as TAN) 2,500 mg/L에서 저해영향이 일어난다고 보고되었으나 하수종말처리장 혐기조의 슬러지 70%, 주정 폐액처리 UASB 입상슬러지 30%의 혼합비의 식중원을 이용하여 UAN 65~250 mg/L에 적응된 경우, UAN 500~600 mg/L에서도 큰 저해영향이 일어나지 않고,

UAN 1,000 mg/L에서 강한 저해영향이 일어난다고 보고되고 있다. 암모니아성 질소의 농도가 815 mg/L(as TAN)인 하수처리장 혐기성소화조 슬러지와 2,420 mg/L(as TAN)인 돼지분뇨를 식중원으로 이용하여 식중원에 따른 암모니아(as TAN)의 영향을 비교한 결과, 하수종말처리장 혐기성소화조의 슬러지를 식중한 경우 암모니아성 질소의 농도가 730~4,990 mg/L(as TAN)로 증가할수록 저해영향이 증가하였고, 돼지분뇨를 식중한 경우 605~3,075 mg/L(as TAN)로 암모니아의 농도가 증가하여도 큰 저해영향이 일어나지 않는다고 하였으며 식중원의 종류에 상관없이 메탄생성율은 암모니아의 농도가 증가할수록 서서히 감소한다고 보고하였다.

이와같이 혐기성 소화에서 암모니아의 혐기성 미생물에 저해/독성작용에 관한 연구에서 pH에 따른 암모니아 종류와 농도에 대한 저해정도와 암모니아에 장기간 순응된 혐기성 미생물의 경우 순응의 정도에 따른 저해작용의 정도는 아직도 명확히 밝혀지지 않았다. 그러므로, 본 연구에서는 MCR 반응기를 이용하여 혐기성 미생물을 순수배양함으로써, 암모니아의 농도에 따른 혐기성 미생물의 저해/독성 영향을 분석하고, 혐기성 미생물의 식중원을 암모니아에 순응이 되어있지 않았던 하수처리장 소화조 침전슬러지와 고농도의 암모니아에 장기간 순응되었던 양돈농가의 집수조 폐수슬러지를 선택하여 식중원에 따른 암모니아의 영향을 비교 분석하고자 한다.

## 제 1 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리

### 1. 실험장치 및 방법

혐기성 미생물에 대한 암모니아의 영향을 분석하기 위하여 Figure 4와 같이 유효부피 9-L의 유리재질의 MCR(master culture reactor) 2 set를 제작하였다. MCR은 외부상단에 부착된 모터의 축에 연결된 반응기내 하단의 프로펠러에 의하여 완전 혼합되었다. MCR의 운전은 38°C 항온조에서 이루어졌다. 배양액의 유·출입과 분석을 위한 시료채취는 peristaltic pump에 의하여 이루어졌으며 발생하는 가스는 wet gas meter에 연결하여 발생량을 측정하였다.

MCR에 혐기성 미생물 균주를 식중하고 sucrose를 탄소원으로 한 N/M/B 배

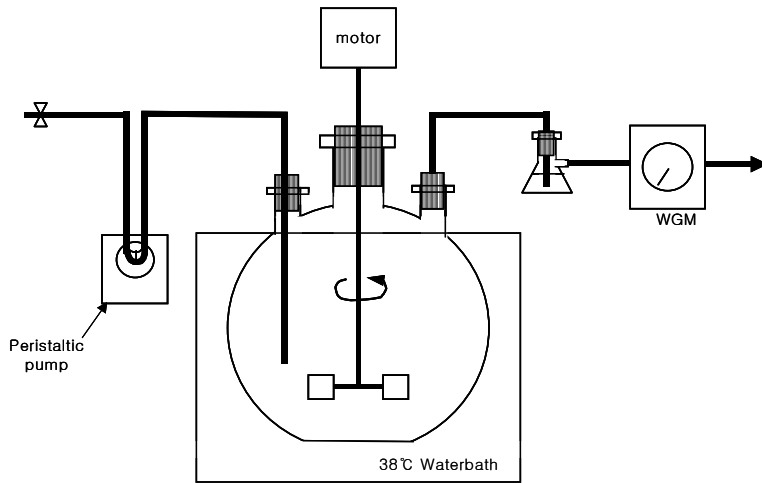


Figure 4-1. Configuration of master culture reactor(MCR).

Table 4-1. Composition of Nutrient/Mineral/Buffer (N/M/B) medium

Ingredient (mg/L)	Concentration in test culture (mg/L)	Ingredient (mg/L)	Concentration in test culture (mg/L)
<b><u>Nutrient :</u></b>		<b><u>Minerals :</u></b>	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	150
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/L · d)	150	MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	200
NH <sub>4</sub> Cl	530	FeCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	20
Cysteine(mg/L · d)	100	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.50
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.25	ZnCl <sub>2</sub>	0.25
<b><u>Buffer :</u></b>		CuCl <sub>2</sub>	0.15
NaHCO <sub>3</sub>	6,000	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.05
		CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	2.50
		NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.25
		Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	0.25

1. 150 mg/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in the NMB medium provides 5 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L · d or of 5% of the COD load
2. 100 mg/L Cysteine in the N/M/B medium provides 5 mg Cysteine/L · d or of 5% of the COD load

지(Table 4-1)로 충전한 후 COD가 90% 제거 될 때까지 batch로 운전하였으며, 3번

의 batch가 일정하게 되는 정상상태로 유지될 때까지 배양한 후 암모니아에 의한 혐기성 미생물의 저해/독성 영향을 분석하기 위하여 암모니아의 농도를 증가시켜 배양하였다.

MCR 1 set(MCR-1)은 암모니아에 순응이 되지 않은 천안시 하수종말처리장 혐기성 소화조 잉여슬러지를 그리고 다른 set의 MCR(MCR-2)은 암모니아에 장기간 순응된 아산시 소재의 세실 양돈농가 폐수집수조 침전슬러지로 식종하였다. 미생물체류시간(SRT)을 20일로 배양하여 정상상태가 유지된 후 암모니아원으로  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 을 사용하여 암모니아(as TAN)의 농도를 1,500, 2,500 mg/L으로 증가시키면서 batch 형태로 배양하였다. 혐기성 미생물에 대한 암모니아의 저해/독성 영향은 COD 제거율과 발생하는 가스의 누적발생량에 의하여 판단하였다.

## 2. 분석방법

MCR에서 채취되는 시료는 분석시까지  $4^\circ\text{C}$  냉장고에 보관하였으며 pH, alkalinity,  $\text{COD}_{\text{cr}}$ , 부유물질로 SS(suspended solid)와 VSS(volatil suspended solid), TKN(total Kjeldahl nitrogen), TP(total phosphate)을 분석하였다. 모든 분석은 미국공중보건협회의 표준시험법과 공정시험법을 따랐다.  $\text{COD}_{\text{cr}}$ , TKN, TP는 GF/C여과지(Glass Microfibre Filters, Whatman<sup>R</sup>, USA)를 이용하여 여과한 후 분석하였다. 반응기내 암모니아의 분석은 TKN으로 하였지만 혐기성 소화 조건하에서 암모니아는  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 의 형태로 주입되었으므로 TAN으로 표현하였다. 발생가스의 조성분석은 연속가스분석기(LMXs multigas, CE, UK), 발생량은 wet gas meter(W-NK-0.5A/1A, Shinagawa, Japan)를 이용하여 측정하였고 VFAs(volatil fatty acids)는 시료를 phosphoric acid로 산성화한 후 Supelco Wax 10 capillary column을 내장한 GC-FID(14B, Shimazu, Japan)을 이용하여 분석하고 acetate이외의 volatile acid는 acetate 등량으로 환산하였다.

## 3. 혐기성 미생물의 MCR 반응기에서의 적응

MCR-1, 2의 식종초기 batch와 정상상태 batch의 COD농도와 누적가스생성량을 Figure 4-2,3에 나타냈다. MCR-1은 식종초기 Batch에서 COD 90%이상 제거 시 7일이 소요되었으나, 정상상태인 4번째 batch에서는 2일로 감소하였다. 식종

초기 batch, 정상상태 4번째 batch의 가스생성율은 각각 0.5, 3.2 L/g COD · day 였고, 소요시간 2일 COD제거율은 각각 58%, 95%로 정상상태에서 COD제거속도가 더 빠르게 일어났다. MCR-2는 식중초기 batch에서 COD 90%제거시 12일이 소요되었으나, 정상상태 6번째 batch에서 2일로 감소하였다. 식중초기 batch, 정상상태에 이르는 중간단계 3번째 batch, 정상상태 6번째 batch의 가스생성율은 각각 0.4, 0.8, 2.7 L /g COD · day였고, 소요시간 2일 일때 COD제거율은 각각 34%, 56%, 91%로 나타났다. 혐기성 소화 배양조건에 적용된 식중원을 이용한 MCR-1의 경우 MCR-2보다 정상상태에서의 가스생성율, VSS농도가 더 컸으며, 식중초기 동일한 환경조건에서 COD 90%제거시 소요시간이 더 빠르게 나타났다. 이는 혐기성 소화 배양조건에 적용된 식중원을 이용한 경우 더 빠르게 배양 환경조건에 적응 · 증식됨을 알 수 있었다. 정상상태에 이르는 MCR의 가스생성율은 이론적으로 혐기성 소화의 안정화 상태로 알려진 0.4~0.8 L/g COD(38°C)에 속하므로, MCR 반응기를 이용한 혐기성 미생물의 배양은 적합하다고 판단된다.

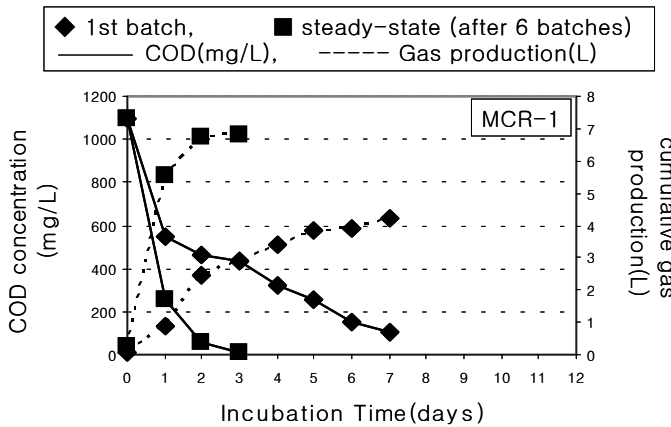


Figure 4-2. Patterns of COD removal and gas production during adaptation on batch operation of MCR-1.

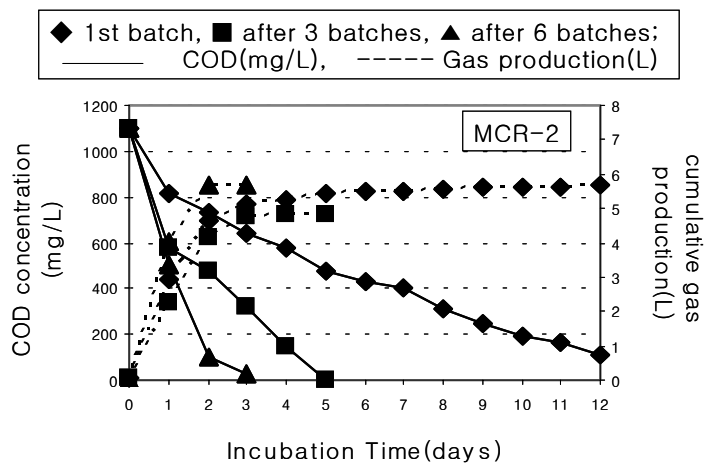


Figure 4-3. Patterns of COD removal and gas production during adaptation on batch operation of MCR-2.

## 제 2 절 혐기성 미생물의 생리적 특성 및 생육조건 확립

### 1. 정상상태에서 암모니아 농도에 따른 영향

MCR-1, 2 정상상태의 control, 암모니아 1,500mg-N/L, 2,500 mg-N/L에 소요시간에 따른 COD 농도와 누적가스생성량을 각각 Figure 4-4에 나타냈다. MCR-1은 암모니아 농도가 증가될 때 COD 90%이상 제거 소요시간은 각각 2, 5, 7일로 길어졌고, 소요시간 2일에서의 COD제거율과 누적가스생성량은 암모니아 농도가 증가할수록 각각 95%, 76%, 40% 그리고 6.7L, 5.2L, 3.8L로 감소하였다. MCR-2의 COD 90%이상 제거시 소요시간은 control에서 2일, 암모니아 1,500 mg-N/L, 2,500 mg-N/L에서 3일이었고, 소요시간 2일에서의 COD제거율과 누적 가스생성량은 암모니아 농도가 증가할수록 각각 91%, 66%, 90% 그리고 5.7L, 4L, 2.9L로 감소하였다.

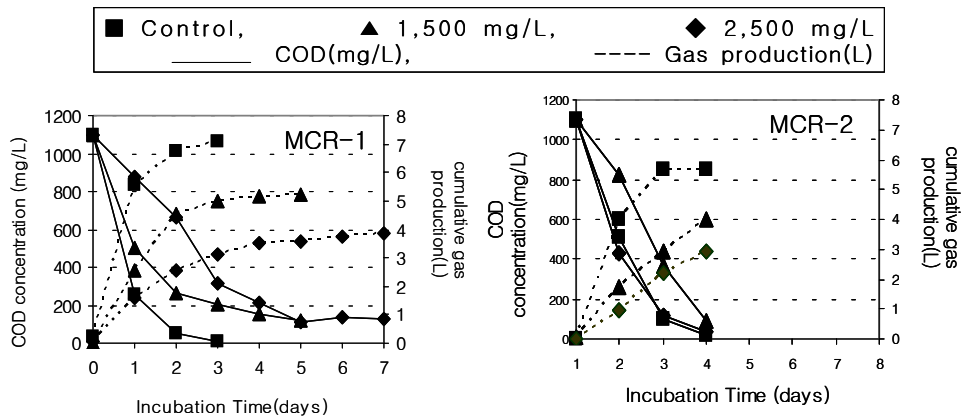


Figure 4-4. Patterns of COD removal and gas production after addition of ammonia to MCR at steady-state operations.

## 2. 혐기성 미생물의 생육조건

MCR-1, 2의 운전 및 환경조건은 Table 4-2에 나타난 것과 같이 control, 암모니아를 인위적으로 1,500mg-N/L, 2,500 mg-N/L로 주입한 모든 경우에 pH 7.9~8.2, alkalinity 2,600~3,600 mg/L as CaCO<sub>3</sub>로 유사하게 유지되었다. 암모니아는 NH<sub>4</sub>Cl로 주입하여 TAN이 1,500 mg-N/L, 2,500 mg-N/L로 인위적으로 조절하였다. TAN 1,500 mg-N/L, 2,500 mg-N/L은 MCR-1에서 UAN으로 환산하면 각각 110, 200 mg-N/L, 그리고 MCR-2에서 UAN으로 환산하면 120 mg-N/L, 200 mg-N/L이 된다. MCR-1의 VSS농도는 control에서 900~1,000 mg/L였으나, 암모니아의 농도가 증가할수록 감소하여 2,500 mg-N/L에서는 250~450 mg/L로 나타났고, MCR-2의 VSS에서는 500 mg/L 정도로 암모니아 농도변화로 인한 차이는 미소했다. 정상상태의 MCR-1, 2의 가스조성비 CH<sub>4</sub>:CO<sub>2</sub>는 40:60였다. 암모니아 1,500 mg-N/L에서 MCR-1, 2의 누적가스생성량은 감소하였으며 COD 90% 제거에 소요되는 시간이 증가하므로 혐기성 미생물은 암모니아 1,500 mg-N/L 이상에서 저해영향을 받음을 알 수 있었다.

Table 4-2. Comparison of operational parameters of MCR-1 and -2 after addition of ammonia to reactors before and after adaptation on ammonia

MCR Environment			Operational parameters of batch operation							
			Period (days)	TAN (mg/L)	UAN (mg/L)	pH	Alkalinity (mg/L as CaCO <sub>3</sub> )	TSS (mg/L)	VSS (mg/L)	TP (mg/L)
MCR 1	Control	Unadapted	7	133	22	8.2±0.1	2,600±100	400±100	280±50	140±10
		adapted	2	128	16	8.2±0.1	3,400±100	1,100±100	900±100	140±10
	1,500 (mg/L)	Unadapted	6	1,500	113	7.9±0.1	3,600±100	800±200	600±100	90±10
		adapted	5	1,500	110	7.9±0.1	3,500±100	600±100	350±50	110±10
	2,500 (mg/L)	Unadapted	11	2,500	229	7.9±0.1	3,200±100	600±300	450±100	90±10
		adapted	7	2,500	200	7.9±0.1	3,300±100	600±100	350±100	90±10
MCR 2	Control	Unadapted	12	257	35	8.1±0.1	3,500±100	550±100	350±100	110±20
		adapted	2	136	19	8.1±0.1	3,400±100	700±100	400±100	120±10
	1,500 (mg/L)	Unadapted	8	1,500	104	7.9±0.1	3,200±100	900±400	600±300	60±20
		adapted	3	1,500	120	7.9±0.1	3,000±200	700±100	500±50	90±10
	2,500 (mg/L)	Unadapted	12	2,500	222	8.0±0.1	3,000±100	700±200	500±200	100±10
		adapted	3	2,500	200	7.9±0.1	3,200±100	800±100	600±100	90±10



### 제 3 절 암모니아 내성 혐기성 미생물에 대한 독성/저해 영향 분석

MCR-1, 2의 암모니아 농도별 적응전과 적응된 상태에서의 소요시간에 따른 COD제거율과 가스생성율을 Table 4-3에 나타냈다. MCR-1은 암모니아 1,500 mg-N/L에서 COD 90%이상 제거시 적응전에는 6일, 적응된 상태에서는 5일로 소요시간은 크게 차이가 나지 않았으나, 가스생성율은 적응전 0.6 L/g COD · day, 적응된 상태에서 0.9 L/g COD · day로 1.5배 증가하였고 암모니아 2,500 mg-N/L에서 가스생성율은 적응전 0.4 L/g COD · day에서 0.5 L/g COD · day로 COD 90%이상 제거시 소요시간은 적응전 11일, 적응후 7일이 소요되었다. 소요 시간 7일에 COD 제거율은 적응전 60%, 적응된 상태에서 89%로 적응된 상태에서의 COD 제거속도가 더 빨랐다. MCR-2는 암모니아 1,500 mg-N/L에서 COD 90%이상 제거시 소요시간이 적응전 8일에서 적응된 상태에서는 3일로 감소하였고, 가스생성률은 0.6 L/g COD · day에서 1.2 L/g COD · day를 2배 증가하였다. 암모니아 2,500 mg-N/L에서 MCR-2는 적응전 COD 90%제거시 소요시간은 12일이었으나, 적응후 3일로 줄었고, 가스생성률은 적응전 0.3 L/g COD · day에서 적응후 1.0 L/g COD · day로 약 3배이상 증가하였다. 암모니아에 적응되지 않은 하수종말처리장 잉여슬러지를 식중환 MCR-1과 암모니아에 장기간 적응된 축산 폐수 집수조의 침전슬러지를 식중환 MCR-2를 비교하면 암모니아에 장기간 적응된 MCR-2가 고농도 암모니아에서도 저해영향을 적게 받음을 알 수 있었다.

Table 4-3. Performance comparison of MCR-1 and -2 after addition of ammonia to reactors before and after adaptation on ammonia

MCR Environment			Ammonia		Performance of MCR batch operation		
			TAN (mg/L)	UAN (mg/L)	Period (days)	COD removal efficiency(%)	Gas production rate (L gas/gCOD · d)
MCR 1	Control	Unadapted	133	22	7	91	0.5
		adapted	128	16	2	95	3.2
	1,500 (mg/L)	Unadapted	1,500	113	6	93	0.6
		adapted	1,500	110	5	89	0.9
	2,500 (mg/L)	Unadapted	2,500	229	11	60	0.4
		adapted	2,500	200	7	89	0.5
MCR 2	Control	Unadapted	257	35	12	90	0.4
		adapted	136	19	2	91	2.7
	1,500 (mg/L)	Unadapted	1,500	104	8	88	0.6
		adapted	1,500	120	3	92	1.2
	2,500 (mg/L)	Unadapted	2,500	222	12	96	0.3
		adapted	2,500	200	3	96	1.0

## 제 4 절 암모니아 내성 혐기성 미생물의 대량 배양

FRP 재질의 1 m<sup>3</sup> 혼합 생물반응기를 Figure 4-5와 같이 제작하여 고농도 암모니아에서 장기간 적응된 MCR-2의 암모니아 내성 혐기성 미생물을 식중원으로 대량 배양하여 실증용 현장 혐기성 소화공정에 투입하였다.

혼합 생물반응기의 methanogenic bacteria는 acidogenic bacteria에 비해 온도에 상당히 민감하므로 휘발성 지방산을 더욱 많이 이용하게 하기 위해서 중온대 온도인 30-38℃가 유지되도록 설계하였고 중온대와 고온대 혐기성 미생물 모두 generation time이 25-30일 사이가 최적으로 알려져 있으므로 HRT는 이 범위를 유지하였다. 양돈폐수의 경우 C:N의 비율이 2 이하일 때 3개월이상 고농도의 NH<sub>4</sub>-N에 적응시킨 메탄 발효균이라도 독성현상을 일으키는 것으로 알려져 있으므로 영양적 조성은 학자에 따라 다르나 적합 비율인 C:N=25-30:1 을 유지토록 설계하였다. 유독한 물질은 혐기성소화의 실패의 요인으로 작용하므로 독성물질인 산소가 유입되지 않도록 이단 혼합형 소화공정에 접종할 때 air-tight sealing이 되도록 하였고 가축분뇨와 함께 살균제, 사료첨가제, 약품류 등이 유입되지 않도록 원폐수의 성상에 주의하여 식중하였다.



Figure 4-5. Mixed bioreactor(1 m<sup>3</sup>) made from FRP

## 제 5 절 결론

하수종말처리장의 혐기성소화조의 잉여슬러지를 식중한 MCR-1과 축산농가의 집수조 침전슬러지를 식중한 MCR-2를 38℃ 항온조에서 탄소원으로 sucrose 1.1 gCOD/L와 NH<sub>4</sub>Cl 독성물질을 이용하여 배양함으로써 혐기성 소화시 암모니아의 저해/독성 영향과 식중의 출처에 따른 암모니아의 저해/독성 영향을 비교 분석하였다. 암모니아의 임의적인 주입을 하지 않은 Control MCR-1, 2는 식중 초기 COD 제거율이 90%이상이 되는데 약 7-12일의 소요기간이 필요했으나, 배양 환경조건에 적응되어 정상상태에서는 2일로 소요기간이 줄어들고, gas 생성량은 0.6-0.7 L/g COD로 이론적으로 안정된 혐기성 소화시 발생하는 가스생성량의 범위로 알려진 0.4-0.8 L/g COD 범위에 속하므로 MCR반응기는 혐기성 미생물의 배양에 적합하다고 판단된다. 암모니아 1,500 mg-N/L에서 MCR-1, 2의 가스생성율은 감소하였으며, COD 90%제거시 요구되는 소요시간과 최소 COD 농도는 증가하여 암모니아에 의하여 혐기성 미생물이 저해 영향을 받음을 알 수 있었다. 암모니아에 적용되지 않은 하수종말처리장 잉여슬러지를 식중한 MCR-1과 암모니아에 장기간 적용된 축산폐수 집수조의 침전슬러지를 식중한 MCR-2를 비교하면 암모니아에 장기간 적용된 MCR-2가 고농도 암모니아에서도 저해영향을 적게 받음을 알 수 있었다.

## 제 5 장 생물학적 N, P 제거 및 균체 이용 방안

### (제3세부과제 - 주관기관 충북대학교)

#### 제 1 절 서론

우리나라의 축산 농가는 대부분 영세한 규모로서 소비지인 대도시 외곽의 하천 주변에 위치하고 있어 축산 농가로부터 발생하는 고농도의 축산 폐수는 제대로 처리되지 않는 상태로 하천에 유입되어 수질 악화의 주요인이 되고 있으며, 특히 질소와 인에 의한 호소 부영양화가 문제시 되고 있다. 그러나 우리나라에서는 질소와 인에 대한 배출 규제가 본격적으로 시작된 기간이 짧고, 지금까지 질소와 인의 제거보다는 통상적으로 BOD, COD, SS등에 관심을 두고 처리해 왔기 때문에 하·폐수중의 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 광합성 세균은 영양 요구도가 다른 미생물보다 단순하고 혐기, 호기, 및 명·암조건의 어떠한 환경에서도 산소의 확산 속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있으며, 활발한 운동성을 가지고 있고 유기 물질의 섭취 속도가 높은 특성을 가지고 있다. 그러므로 본 연구에서는 국내에서 많이 배출되는 양돈 폐수를 이용하여 생물학적 질소 비료를 생산하기 위하여 우수 균주 선발, 배양 후 균체를 집중하여 상추를 재배 후 그 효과를 검정 하고자 한다.

세계적으로 여러 나라에서 cyanobacteria가 생물비료로 사용되어 200만 ha 이상의 논을 비옥하게 만든다고 보고되어 있다. 몇몇 벼 재배 국가에서 수많은 cyanobacteria 균주가 연못과 탱크에서 단독 또는 혼합되어 자란 후 건조되어, 논 토양에 널리 투여되어 왔다. 생물학적 비료로서 사용하기 위해서 생체 (100kg/ha) 또는 건조된(10kg/ha) cyanobacteria가 모내기 후 간단히 논 토양에 처리되면 그곳에서 cyanobacteria는 자라면서 질소를 고정하게 된다. 생물학적 비료로 흔히 사용되는 cyanobacteria 균주는 *A. fertilissimas*, *Anabaena* sp., *Nostoc* sp., *Calothrix* sp., *Scytonema* sp., *Cylindrospermum* sp., *Gloeotrichia* sp.를 포함해서 광범위한 종이 이용되었다. 논에서 자라 건조된 *A. fertilissimas* 매트는 생물학적 비료로서 광범위하게 사용되었다. 질소와 인산은 모든 식물이 가장 많이 요구되는 다량 원소이다. 많은 energy 가 요구되는 화학 질소 비료와

인산 비료의 사용을 줄이면 경제적인 효과와 더불어 최근에 비료 성분 유출에 따른 환경 친화적 영농 방법 개발에도 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

질소는 모든 식물이 가장 많이 요구하는 다량 원소이다. 많은 energy가 요구되는 화학 질소 비료의 사용을 줄이면 경제적인 효과와 더불어 최근에 비료 성분 유출에 따른 환경친화적 영농방법 개발에도 많은 도움이 될 것으로 생각된다. 그러므로 본 연구에서는 국내에서 많이 배출되는 양돈 폐수를 이용하여 생물학적 질소 비료를 생산하기 위하여 우수 균주 선발, 배양 후 균체를 접종하여 상추를 재배 후 그 효과를 검정 하고자 한다.

## 제 2 절 실험장치 및 방법

생물비료용 cyanobacteria을 선발하기 위하여 충북 지역의 비옥 토양, 농업용수 등에서 시료를 채취하였다. 질소 고정 unicellular와 filamentous cyanobacteria 탐색 및 분리·배양은 균주가 광합성을 할 수 있는 독립 영양균인 특성을 감안하여 탄소원이 전혀 포함되지 않고 약간의 무기염과 미량의 mineral이 포함되어 있는 배지(변형된 BG-II)를 이용하였다. 채취한 시료는 질소원이 제한된 고체배지에 도말 한 후 형광등 조명을 이용 하여 30℃에서 순수 배양을 시켰으며, 이 과정을 수 차례 반복하였다. 선발된 균주의 동정은 colony 형태, morphological 특성, cell, size, 성장 속도 등을 비교하는 방법 등으로 시도하였다.

본 실험에서 재현성 있는 실험결과를 얻기 위해서 중요한 것은 여러 차례의 실험에서 동일한 상태의 접종량을 확보하는 것이다. 따라서 많은 량의 접종 균주를 확보하기 위해 20 mL cap tube에 2 mL씩 액체배지를 넣고 멸균시켜 냉각시킨 후 균체를 접종하여 형광등 조명을 이용한 배양기에서 15일간 정지배양하였다. 이 중 성장이 우수한 균체를 선발해 멸균된 200 mL Erlenmeyer flask의 50 mL 액체배지에 계대배양 시킨 후 15일간 shaking-incubator을 이용하여 배양하여 이것을 접종 원으로 사용하였다. 배양조건은 형광등조명을 이용한 명(12시간)/암(12시간)으로 처리했고, 온도는 28℃이며 120rpm으로 shaking시켜 배양하였다.

미세조류의 생육과 질소 및 인산의 흡수능이 우수한 균체를 선발하기 위하여

멸균된 BG-II(NO<sub>3</sub>) 고체배지와 액체배지에서 각각 실험하였다. 고농도 질소의 환경에서도 생육이 우수한 균체를 선발하기 위해 질소의 농도를 달리 처리한 고체배지에 순수 분리된 균주를 화염 멸균된 백금으로 평면도말하여 3반복 처리하였다. 처리된 균체는 형광등 조명을 이용해 명(12시간) / 암(12시간) 조건으로 온도가 28℃인 배양기에서 20일간 배양 시킨 후 생육상태를 조사하였다. 균체의 생육율과 흡수능을 비교하기 위해서 액체배지에 동일한 상태의 접종량으로 처리하는 것은 무엇보다도 중요하다. 따라서 4주전에 2차례 계대배양 시켜 생육된 균체를 각각 100 mL 원심분리 tube에 넣고 고속원심분리기를 이용해 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상등액만을 분리 하고, 균체는 멸균한 증류수 2차례 세척하였다. 분리된 균체에 20 mL의 증류수를 가하여 잘 흔들어준 후 혼합된 균체는 20cc 멸균된 주사기에 부어서 3차례 통과시켜 잘게 분쇄시키고, 준비된 250 mL Erlenmeyer flask의 100 mL 액체배지에 비슷한 양으로 접종하였다. 모든 균체는 2반복 처리했으며 처리된 균체는 형광등을 이용한 shaking-incubator에서 온도는 28℃로 유지시켰고, 광처리는 명(12시간) / 암(12시간)조건으로 배양하면서 생육상태와 질소 및 인산 제거율을 조사하였다.

균체내의 엽록소 a 함량은 배양중인 처리구에서 시료 1 mL을 Eppendoff tube에 취해 10,00 rpm으로 10분간 원심분리하여 상정액과 균체를 분리하였다. 분리한 상정액은 배지내 인산가 질소를 분석하기 위해 다른 tube에 넣어서 냉장보관하였다. 상정액이 완전히 제거된 균체(pellet)에 100% 메탄올 1 mL을 넣고서 30초간 vortex 시킨후 10분간 70℃로 중탕처리 하였다. 메탄올에 우리나라 엽록소 a 함량을 측정하기 위해서 다시 10,000 rpm 으로 10분간 원심분리하여 상정액만을 취해서 spectro-photometer(Model U-2000, HITACHI)을 이용하여 663 nm와 730 nm에서 흡광도를 측정하였다. 엽록소 a 함량은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{엽록소 a}(\mu\text{g/ml}) = (A_{663} - A_{730}) / 78.74$$

균체의 건물량(dry Weight)은 20일간 배양된 100 mL 균체를 배양액과 함께 250 mL 원심분리용 tube에 가한 후 10,000 rpm에서 25℃로 15분간 원심분리하고 상정액은 완전히 제거한 후 침전된 균체(pellet)를 증류수로 세척한후 원심분리를 반복하였다. 원심분리 후 무게를 알고 있는 filler paper (Whatman No. 2)에 여과시킨 후 고형물을 건조기에서 80℃로 12시간 건조하여 무게를 측정하였다. 세포내 총인 함량과 총질소 함량 분석은 균체를 건조시켜 습식 산분해 후

Kjeldahl(전질소 함량) 및 ammonium-molybdate법(전인산 함량)을 이용하였다. 건조세포 중량을 측정한 후 건조된 시료를 Kjeldahl tube에 넣고 5 mL 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 촉매제를 넣고서 잘 혼합한다. Kjeldahl tube를 block digester(Tecator 2040 digester)에서 처음에는 낮은 온도로 가열한 후 점차 온도를 높여서 약 360°C~400°C에서 2시간정도 무색이 될 때 까지 분해 시킨 후 냉각 시켜서 20 mL의 증류수를 가하여 vortex 시킨다. 인산 분석을 위해서 분해된 25 mL의 시료 중 5 mL을 취해서 다른 tube에 담아서 보관하고, 나머지 시료는 Kjeldahl 증류장치(Tecator 1030 analyzer)를 이용하여 총 질소함량을 측정하였다. 세포내 총 인산은 분해된 시료 중 1 mL에 중화용액(4N NaOH) 1 mL를 넣고 발색시약(ammonium-molybdate와 ascorbic acid의 혼합액) 2 mL와 증류수 6mL를 가하여 vortex 시켜 30분간 실온에서 발색시킨 후 spectrophotometer(Model U-2001, HITACHI)을 이용하여 663 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 무기태 질소와 인산의 함량은 자동분석기(FIASTAR 5000, Foss Tecator)을 이용하여 측정하였다. 인산과 질소분석은 엽록소 a 측정시 분리된 상정액을 증류수를 가하여 희석한 후에 인산은 882 nm에서 질소는 540 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

본 실험은 온실에서 자연광을 이용하여 3 L와 15 L reactor에서 1차 정화된 2차폐수 원액 또는 2배 희석하여 선발균주의 최적배양 실험을 수행했다. 균체 배양은 제 1 세부과제에서 1차 정화된 폐수를 멸균하지 않은 상태로 배양액으로 사용하였고, air의 공급을 위해 배양기의 외부에 유량이 air pump를 설치하고, 배양기의 유속량을 각각 조절하였다. 균체의 배양시 pH의 조절, 완충용액의 효과, 폭기량의 차이에 따른 각각의 균체 생육상태를 조사하였다.

배양균주의 효과를 검정하기 위한 작물로 재배 기간이 비교적 짧으며 비교적 낮은 온도에서도 잘 자라는 상추 [품종: 청치마 상추(가덕면), 뚝섬적축면상추(신촌동)]를 선정하여 재배하였다. 시험을 수행한 장소 중 한곳인 충북 청원군 가덕면 삼항리(이하 가덕면)는 본 실험을 시작하기 바로 전에 고추를 재배하던 곳이며, 고추를 수확하고서 상추를 이식할 때까지 약 2주 동안 아무 작물도 재배하지 않고 쉬는 기간이 있었다. 시험 처리 기간 중에는 합성농약은 물론, 어떠한 미생물제나 화학비료도 처리하지 않았다. 또 다른 시험지는 충북 청주시 흥덕구 신촌동의 비닐하우스(이하 신촌동)로서, 전작물로 싹갓을 재배하였던 곳이며, 싹갓 수확 후 상추 이식 때까지 약 2주 동안 아무 작물도 재배하지 않았던 곳이다. 두 곳 모두 영양분원 으로는 주로 시중에 판매하는 유기질 퇴비를 구입하여 사

용하여 왔으며, 농약은 그 때 그 때의 병해충 발생 상황에 따라서 사용하였으나, 항상 규정량을 지켜서 사용하였으며, 작목 자체가 병해충의 발생이 많지 않아 농약 처리의 필요성이 적은 것들이었기 때문에 전체적인 사용량은 일반 농가들보다도 적은 편이었다고 할 수 있다. 시험 기간 중에는 시험 미생물제를 제외하고는 어떠한 농약이나 비료도 처리하지 않았다. 토양 이화학성 조사는 토양을 풍건 시킨 후 2mm체를 통과한 것을 사용 하였다. 토양 pH, 유기물 함량, 토양 E.C, 전질소 및 유효인산함량을 농업과학기술원의 분석법에 준하여 측정하였다.



### 제 3 절 결과 및 고찰

다양한 시료로부터 위에서 설명한 방법에 따라 무질소, 무탄소 영양 상태에서 생육이 가능한 균주를 2차 선발하여 균주의 형태와 크기 및 현미경 관찰(heterocyst의 유무, 위치, trichome의 모양 및 길이, 분자의 유무)을 통하여 동정한 결과 filamentous form의 cyanobacteria 18종 (Genus : *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Sytonema*, *Cylindrosprum*, *Hepalosiphon*) 및 unicellular form cyanobacteria 2종 (Genus : *Synechococcus*, *Gleotheca*)으로 나타났다.

BG II 배지에서 성장 속도가 빠른 8종의 분리 균주(*Hepalosiphon* SH101, *Calothrix* SC401, *Cylindrosprum* SY101, *Sytonema* SS101, *Anabaena* SA301, HA701, *Nostoc* SN 501, HN 601)의 기내 질소 고정력을 측정된 결과 질소 고정력은  $3.8 \sim 22.4 \text{ n} \cdot \text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mg} \cdot \text{chl a}/\text{H}$ 의 범위에 있었고 *Hepalosiphone* SH 101, *Anabaena* HA 701 및 *Nostoc* HN 601의 질소 고정 능력이 우수하였다. 질소고정력이 우수한 *Nostoc* HN 601과 *Anabaena* HN701의 생육시 탄소원이 처리 후 질소 고정력의 증가현상은 Glucose가 Sucrose보다 효과적 이었으며 농도가 증가함에 따라 질소고정력도 증가하였다. 토양에는 다양한 탄소원이 존재하므로 광합성 외에도 주변의 탄소원을 효율적으로 사용한다면 생육 및 질소고정에도 많은 도움이 될 것이다.(Table 5-1.2)

*Nostoc* HN 601과 *Anabaena* HA 701의 생육시 질소원의 처리 후 질소 고정력의 변화는 그림 9와 같다. 암모니아 처리시 24시간 내에 질소고정력이 100% 억제 받았으나 생육이 증가하여 배지의 질소원이 소모된 후 질소 고정력은 급격히 증가하여 대조구 수준 또는 그 이상으로 증가하여 토양에 처리하여도 잔존질소의 양에 관계없이 생육 및 질소 고정능은 유지가 가능할 것으로 사료되었다.(Table 5-3.4) 결합된 질소(질산염이나 암모니아 이온)가 제한될 경우, 대다수 filamentous  $\text{N}_2$ 고정 cyanobacteria는 생리, 생태, 생화학적으로나 기능상으로 일반 세포와는 다른 특이한 세포(heterocyst)를 만든다. Heterocyst는 호기성 질소고정이 일어나는 유일한 장소이며 vegetative cell과 서로 도움을 주며 성장한다. Heterocysts는 질소고정으로 생성한 질소 물질을 vegetative cell밖으로 내보내고, energy source인 탄소원을 공급받는다. vegetative cell이 heterocyst로 변화하는 과정에서 membrane의 구조가 변하며 외부 세포벽은 산소의 투과성을 줄일 수 있는 구조로 변하게 된다. Heterocysts에 phycocyanine이 결여 되어

있음은 이 세포들이 photosystem II의 부족으로 산소를 생성하지 못하게 함을 나타내며 이는 질소고정 효소인 nitrogenase의 활동이 산소에 의해 억제되는 것을 방지하는 것으로 알려져 있다. Heterocyst기능의 다른 특성은 산소가 방출되는 호기적 환경하에서 빛에 의해 생성된 energy를 이용하여 질소 고정을 할 수 있게 되어 있다는 것이다. 또다른 heterocysts의 특징은 nitrogenase활성을 억제하는 체내  $\text{NH}_4^+$ 의 축적을 방지하기 위하여 효과적인  $\text{NH}_4^+$ 동화작용 체계를 가지고 있다는 점이다. 무기질소의 공급원이 제한될 때 많은 cyanobacteria는 nitrogenase복합 효소를 통해서 질소 고정을 할 수 있다.

고농도 질소배지에서 생육이 우수한 것으로 나타난 *Aanabaena*(5종) sp.와 *Nostoc*(5종)sp.를 선발해 이들 균주의 생리적 특성을 조사하였다. 선발된 *Nostoc* 5종(HN101, HN206, HN301, HN601, HN701)과 *Anabaena* 5종(HA101, HA205, HA301, HA401, HA701)은 대표적으로 color pigment를 모두 포함하고 있었다. 색소체(color pigment)는 조류세포 내 틸라코이드(thylakoid) 막 표면에 분포한 피코빌리솜(phycobilisome)에 존재하며, 색소체(colorpigment)는 phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin, phycoerythrocyanin 등 4종류가 있다. 이들 색소체의 역할은 조류세포의 색소체(color pigment)안에 엽록소(chlorophyll)가 들어있어서 조사된 빛 에너지를 흡수하여 화학 에너지로 바꿔주는 중요한 역할을 한다. 피코시아닌(phycocyanin)의 함량은 대체로 *Anabaena* 계통에서 높게 나타났고, phycocyanin과 allophycocyanin의 함량은 *Nostoc* 계통에서 높게 나타났다. 남조류는 빛의 환경에 따라 피코빌리솜(phycobilisome)의 조성을 바꿈 으로서 적응하는 것으로 보고되고 있어서, 환경적응력은 *Nostoc* 계통이 우수한 종으로 판단되었다.

분리균주 내 질소 및 인산함량을 측정하기 위하여 10종의 균주(*Nostoc* 5종, *Anabaena* 5종)를 각각 3주간 배양한 후 여과, 건조시켜 균체의 총 질소 및 총 인산함량을 각각 Kjeldahl법 및 Ammonium Molyhdate법으로 측정하여 정량 하였다. 액체배지에 배양된 균체의 생육상태는 *Anabaena* HA 701와 *Nostoc* HN601, HN701이 다른 균체들에 비해 우수하였다. 균체의 총 질소함량은 *Anabaena* sp.에서 32~61 mg · N/GDW이었고, *Nostoc* sp.에서는 33~63 mg · N/GDW로 높게 나타났다. 이들 균체 중 질소 함량은 *Nostoc* HN701이 79 mg · N/GDW로 가장 높게 나타났다. 균체의 총 인산함량은 *Anabaena* sp.와 *Nostoc* sp. 사이에 큰 차이가 없었으나, 조사균주 중 인산함량은 *Nostoc* HN601이 24.3 mg · P/GDW로 가장 높게 나타났다.(Table 5-5)

균주의 생육에 따른 배지 내 인산 흡수능은 생육이 좋은(Table 5-6) 균주에

서 높은 제거율을 보였고, 특히 *Nostoc* HN601, HN701 및 *Anabaena* HA 701은 배양 초기 5.3 mg/L에서 배양 후 12일에 거의 100%로 급속히 제거하였고 이때 흡수속도는 0.44 mg/L/day로 인산의 흡수능이 매우 우수한 것으로 나타났다.(Table 5-7) 배지 내 질소의 흡수능은 생육율과 매우 흡사한 경향을 보여 주었다. 접종 후 배양 초기에는 다소 큰 차이를 보이지 않았지만 7부터 14일 사이에 질소가 거의 240 mg/L에서 150 mg/L로 급속히 흡수되었다.(Table 5-8) 따라서 균체의 생육은 접종 후 일정 기간이 경과하면 이들 균체들이 배지 및 주변 환경에 적응한 후 최대신장을 위해 질소와 인산을 흡수하는 것으로 판단된다. 선발된 4종(*Anabaena* HA101, *Nostoc* HN601)의 균체 중 생육율과 배지 내 질소 및 인산 제거율을 조사한 결과 *Nostoc* HN601은 단시일 내에 폐액의 질소와 인산을 제거함으로써 본 연구의 목적에 적합한 것으로 판단되어 폐액 처리를 위한 균체로 최종 선발하였다. 또한 가용성인산이온( $PO_4^-$ )은 세포 내 에너지로서 중요한 역할을 담당하는 ATP의 성분이며, nitrate 환원과정 중 세포대사의 중요한 역할을 담당하며, 조류가 질산염을 흡수 할 때 가용성인산에 의해서 영향을 받는다고 한다. 본 연구에서는 인의 농도를 5 mg/L로 고정해서 수행했는데 배양이 장기화되는 경우 인의 부족에 의한 성장 둔화에 대해서 더 고려 해야하고, 향후 연구가 추가되어야 한다고 사료된다.

선발 균주의 생육 및 인산, 질소 제거율에 미치는 초기 pH의 영향은 Table 5- 9, 10, 및 11에 나타내었다. Non-buffering system은 buffering system에 비하여 매우 경제적이거나 배양 기간 중 pH가 조금씩 변하여 높아지기 때문에 pH에 민감한 미생물 배양에는 적합하지 않다. 하지만 일반적으로 Filamentous cyanobacteria는 생육 온도, pH 변화, 영양 조건 등 각종 환경 stress에 강한 내성을 갖는 것으로 알려져 있으며 또한 이러한 성질 때문에 다양한 이화학적 성질의 토양에서 생육이 왕성한 것으로 보고되고 있어서 본 연구의 결과와 같은 것으로 판단된다.

질소와 인의 제거 효율은 pH 7에서 8가지의 큰 차이를 보이지 않아 약 알칼리의 범위에서는 pH의 변화에 민감하지 않는 것으로 보였다. 이는 Gordon등의 보고와 같이 대부분의 조류는 약알칼리에서 최대 성장을 보이는데, 본 미세 조류도 약알칼리에서 조류의 생육이 우수하였으며, 조류가 생육함에 따라 배지의 pH가 증가하는 것으로 판단된다. 공기 주입량이 많아질수록 균주의 의한 폐액의 질소 제거율은 증가 하였다.(Figure 5-1,2,3,4) 제 1 세부 과제에서 1차 정화한 폐액을 희석하지

않고 사용했을 경우 잔존 질소를 80%제거시키는데 공기 주입량에 따라 8일(5.0 L/min) 및 35일 (3.5 L/min)이 소모되어 공기 주입량이 균체의 생육 및 질소 제거에 매우 중요한 요인으로 판단되었다.

분리·배양 균주(*Nostoc* HN601)를 이식시 처리한 뒤 상추를 수확하여 지상부 전체의 무게, 포기둘레, 그리고 단위 잎면적 당 무게등을 조사하였다. 가덕면 포장에서나 신촌동 포장에서나 동일한 방법으로 조사하였는데, 제재처리에 따라서는 상추의 생육에 미치는 영향도 달라지는 것으로 나타났다. 조사 항목 중 특히 지상부의 전체의 무게에 있어서 처리에 따른 생육량의 변화가 심했다. 제재 처리구의 상추 한 포기 당 평균 무게 조사에서는 무처리와 비교하여 처리 구에서 5~7%의 생육 증진 효과를 볼 수 있었다. 가덕면 포장에서는 살균 처리구에서 2%, 제재 처리구에서는 8%의 생육 증진 효과가 있었으며 신촌동 포장에서는 살균 처리구에서 2%, 제재 처리구에서는 5%의 생육 증진 효과가 나타나는 등 지역에 상관없이 생육 증진 효과를 보였다.

Table 5-1. Effect of carbon source on nitrogenase activity of *Nostoc* HN601 isolated from rice field

DAT	Glucose		Sucrose	
	0.12%	0.48%	0.12%	0.48%
----- % -----				
0	100	100	100	100
1	106	114	102	102
2	104	99	151	96
4	112	216	80	78

Table 5-2. Effect of carbon source on nitrogenase activity of *Anabaena* HA701 isolated from rice field

DAT	Glucose		Sucrose	
	0.12%	0.48%	0.12%	0.48%
----- % -----				
0	100	100	100	100
1	156	184	98	143
2	107	400	79	112
4	212	376	193	301

Table 5-3. Effect of nitrogen source on nitrogenase activity of *Nostoc* HN601 isolated from rice field

DAT	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		NaNO <sub>3</sub>	
	1mM-N	4mM-N	1mM-N	4mM-N
----- % -----				
0	100	100	100	100
1	0	0	44	26
2	29	24	25	24
4	46	44	54	54

Table 5-4. Effect of nitrogen source on nitrogenase activity of *Anabaena* HA701 isolated from rice field

DAT	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		NaNO <sub>3</sub>	
	1mM-N	4mM-N	1mM-N	4mM-N
----- % -----				
0	100	100	100	100
1	0	0	33	21
2	61	58	50	64
4	209	115	238	210

Table 5-5. Comparison of total nitrogen and phosphorus content in cyanobacteria isolated from paddy soil

Isolate	Nitrogen g-N/GDW	Phosphorus mg-P/GDW
<i>Nostoc</i> HN 601	0.079	24.3
<i>Anabaena</i> HA 701	0.077	4.9
<i>Anabaena</i> HA 205	0.048	5.4
<i>Anabaena</i> HA 301	0.043	3.8
<i>Nostoc</i> HN 101	0.057	7
<i>Anabaena</i> HA 401	0.063	6.1
<i>Cylindrosprum</i>	0.059	10.8
<i>Sytonema</i>	0.058	12.3
<i>Calothrix</i> HC 101	0.076	10.9
<i>Calothrix</i> HC 301	0.072	9.9
<i>Calothrix</i> HC CH3	0.066	10.3
<i>Anabaena</i> HA 702	0.052	4.3
<i>Calothrix</i> HC 201	0.074	10.1
<i>Calothrix</i> HC 605	0.07	10.2
<i>Nostoc</i> HN 701	0.062	6
<i>RF-7</i>	0.088	9.1
<i>Hepalosiphon</i>	0.061	9.5

Table 5-6. 논 토양에서 분리한 *Anabaena sp.* 와 *Nostoc sp.*의 Chlorophyll 함량의 경시적 변화

Isolate	Days after Growth				
	0	7	14	21	
----- Chlorophyll a (mg/L) -----					
<i>Anabaena</i>	HA101	0.9	3.1	3.5	4.3
	HA201	0.9	1.4	1.0	0.2
	HA301	0.9	0.4	0.4	0.1
	HA401	0.9	2.3	2.3	3.9
	HA701	0.9	3.0	3.0	3.1
<i>Nostoc</i>	HN101	0.5	0.9	1.2	0.5
	HN206	0.5	0.5	0.4	2.5
	HN301	0.5	1.8	0.7	0.5
	HN601	0.9	1.6	3.9	—
	HN701	0.9	2.9	4.2	4.7



Table 5-7. 국내 논 토양에서 분리한 *Anabaena*와 *Nostoc*의 생육 배지의 인산농도 변화

Isolate	Days after Growth				
	0	7	14	21	
----- Phosphate (mg-P/L) -----					
<i>Anabaena</i>	HA101	4.5	3.7	2.2	0.7
	HA201	5.6	5.0	5.0	3.5
	HA301	4.2	3.9	3.2	2.5
	HA401	4.5	3.8	2.7	1.9
	HA701	4.5	2.9	1.5	0.2
<i>Nostoc</i>	HN101	4.8	3.3	3.0	2.7
	HN206	4.8	4.6	2.2	1.0
	HN301	4.5	3.4	2.9	0.8
	HN601	4.2	2.9	1.4	—
	HN701	4.5	2.2	0.2	0.2

Table 5-8. 국내 논 토양에서 분리한 *Anabaena*와 *Nostoc*의 생육 배지의 질산농도 변화

Isolate	Days after Growth				
	0	7	14	21	
----- Nitrate (mg-N/L) -----					
<i>Anabaena</i>	HA101	195	180	172	162
	HA201	195	201	209	209
	HA301	195	184	177	159
	HA401	195	175	165	132
	HA701	195	180	171	150
<i>Nostoc</i>	HN101	197	185	171	154
	HN206	195	190	183	170
	HN301	187	180	160	151
	HN601	180	170	134	—
	HN701	191	169	132	90.0

Table 5-9. *Nostoc* HN601의 생육에 미치는 pH의 영향

pH	D A T			
	0	6	14	18
	----- % of pH8.0 -----			
7.5	100	102	105	114
8.0	100	100	100	100
8.5	100	83	91	114

Table 5-10. *Nostoc* HN601의 배지 인산제거에 미치는 pH의 영향

pH	D A T			
	0	6	14	18
	----- % of pH8.0 -----			
7.5	100	93	86	100
8.0	100	100	100	100
8.5	100	106	100	92

Table 5-11. *Nostoc* HN601의 질소 제거에 미치는 pH의 영향

pH	D A T			
	0	6	14	18
	----- % of pH8.0 -----			
7.5	100	110	108	109
8.0	100	100	100	100
8.5	100	90	83	80

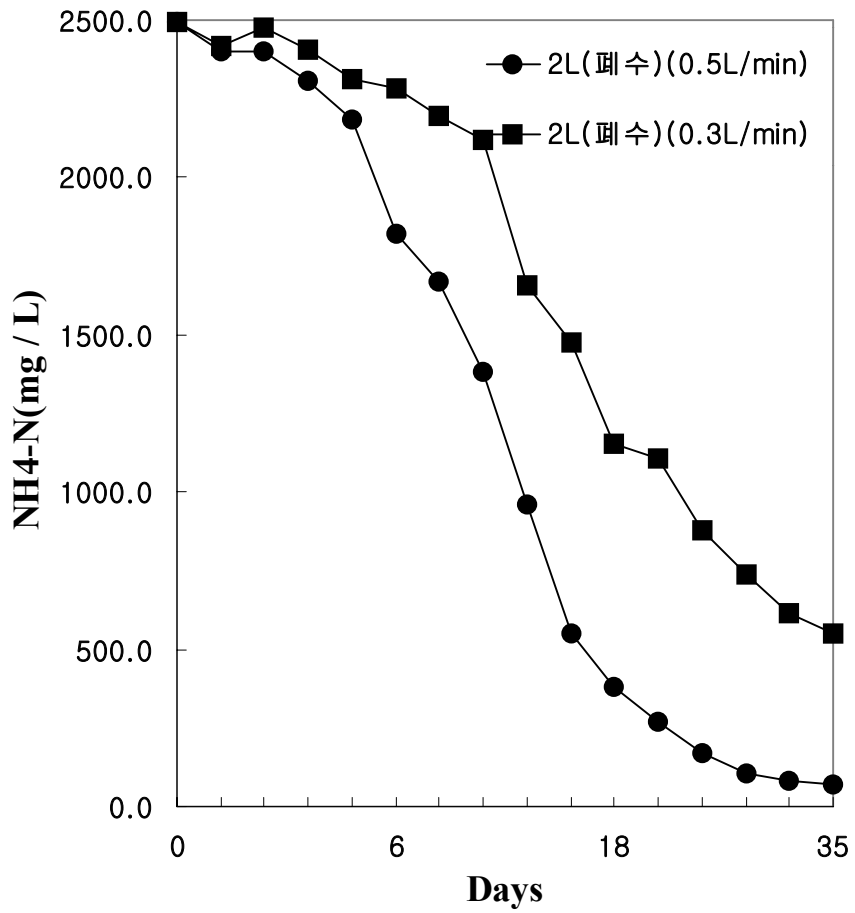


Figure 5-1. 공기 주입량이 *Nostoc* HN601 생육시 폐액의 질소 제거에 미치는 영향 (2L 배양, 1차 여과 원액)

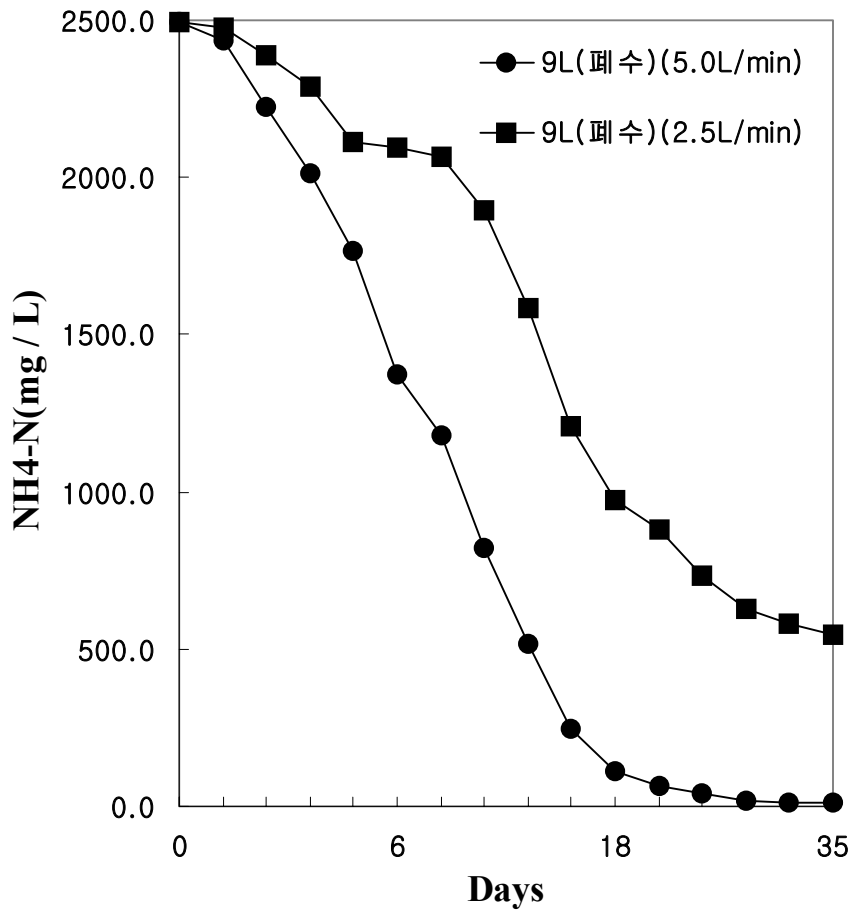


Figure 5-2. 공기 주입량이 *Nostoc* HN601 생육시 폐액의 질소 제거에 미치는 영향 (9L 배양, 1차 여과 원액)

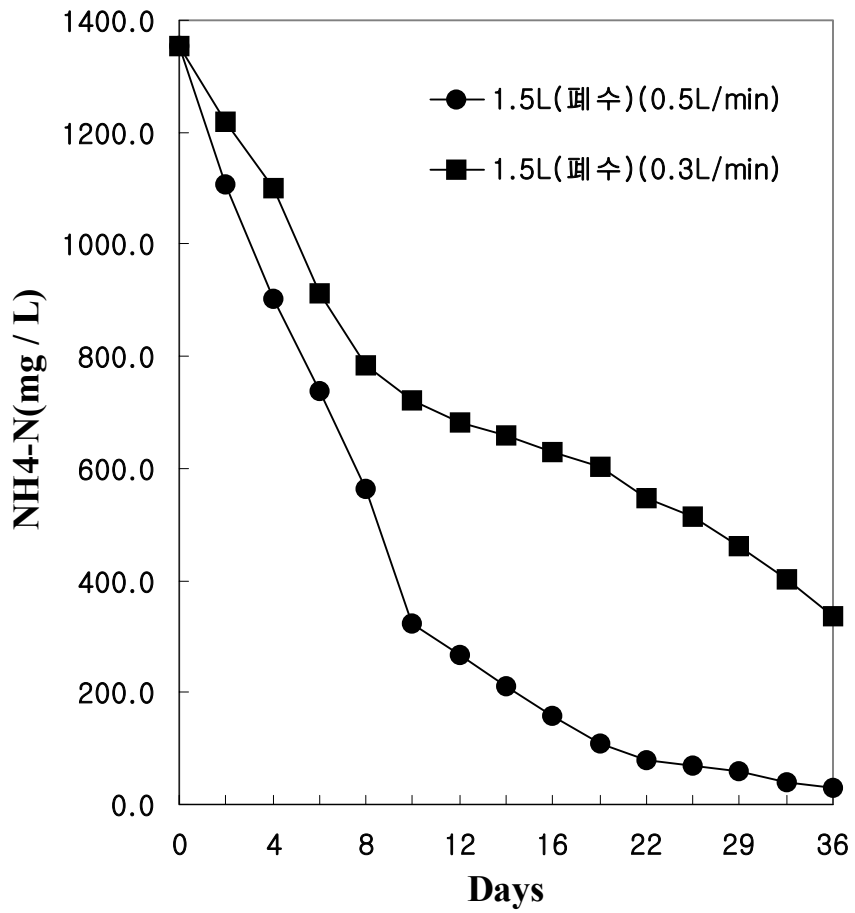


Figure 5-3. 공기 주입량이 *Nostoc* HN601 생육시 회석 폐액(2배)의 질소 제거에 미치는 영향 (1.5L 배양, 1차 여과 2배 회석액)

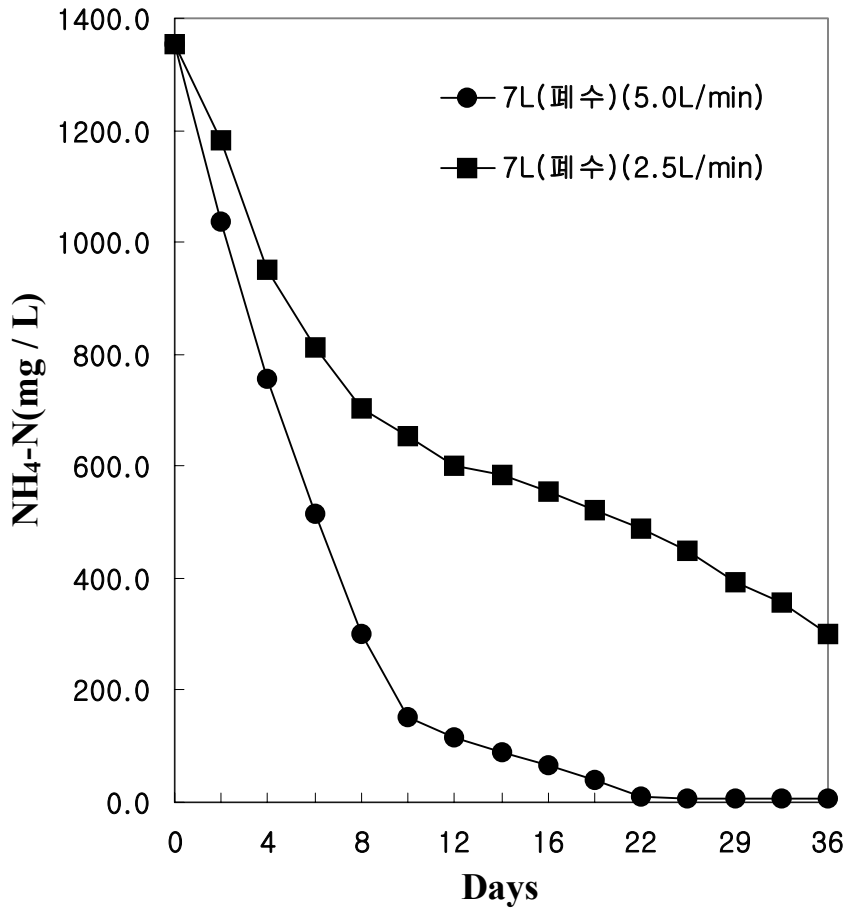


Figure 5-4. 공기 주입량이 *Nostoc* HN601 생육시 회석 폐액(2배)의 질소 제거에 미치는 영향 (7L 배양, 1차 여과 2배 회석액)

Table 5-12. 미생물 처리에 따른 상추의 지상부 무게(g)와 상추의 잎 100cm<sup>2</sup> 당 무게 (g)

처 리	지상부 무게 (g)		잎 100cm <sup>2</sup> 당 무게 (g)	
	가덕면 포장	신촌동 포장	가덕면 포장	신촌동 포장
무처리	129.5	92.0	4.36	3.37
균체살균처리	131.5	94.0	4.48	3.45
균체처리	140.7	98.5	4.60	3.51



## 제 4 절 결론

다양한 시료로부터 위에서 설명한 방법에 따라 무질소, 무탄소 영양 상태에서 생육이 가능한 균주를 2차 선발하여 균주의 형태와 크기 및 현미경 관찰 (heterocyst의 유무, 위치, trichome의 모양 및 길이, 분자의 유무)을 통하여 동정한 결과 filamentous form의 cyanobacteria 18종 (Genus : *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Sytonema*, *Cylindrosprum*, *Hepalosiphon*) 및 unicellular form cyanobacteria 2종 (Genus : *Syneochoccus*, *Gleothece*)으로 나타났다. 균주의 생육에 따른 배지 내 인산 흡수능은 생육이 좋은 균주에서 높은 제거율을 보였고, 특히 *Nostoc* HN601, HN701 및 *Anabaena* HA 701은 배양 초기 5.3 mg/L 에서 배양 후 12일에 거의 100%로 급속히 제거하였고 이때 흡수속도는 0.44 mg/L/day로 인산의 흡수능이 매우 우수한 것으로 나타났다. 분리·배양 균주 (*Nostoc* HN601) 이식시 처리한 뒤 상추를 수확하여 지상부 전체의 무게, 포기둘레, 그리고 단위 잎면적 당 무게등을 조사 하였다. 가덕면 포장에서나 신촌동 포장에나 동일한 방법으로 조사 하였는데, 제재처리에 따라서는 상추의 생육에 미치는 영향도 달라지는 것으로 나타났다. 조사 항목 중 특히 지상부의 전체의 무게에 있어서 처리에 따른 생육량의 변화가 심했다. 제재 처리구의 상추 한 포기 당 평균 무게 조사에서는 무처리와 비교하여 처리 구에서 5~7%의 생육 증진 효과를 볼 수 있었다.

## 제 6 장 목표달성 및 관련 분야 기여도

생활수준의 향상과 식생활의 변화로 인한 축산물의 소비량은 지속적으로 증가되고 있으며 이에 따른 가축 사육 두수는 2001년 말 기준 소는 3,279천두, 돼지는 7,096천두로 꾸준한 증가추세에 있으며 이러한 가축사육으로 발생하는 축산폐수량은 (축분 20%, 뇨와 세정수 포함) 200 천 $m^3$ /일에 이르고 있다. 폐수 총 발생량에 비교하여 축산 폐수 발생량은 0.9%에 불과하지만 오염부하량은 BOD 기준으로 15.1%인 1,000 천kg/일으로 지하수와 지표수의 유기물에 의한 오염과 질소·인에 의한 부영양화의 촉진 그리고 악취에 의한 민원 발생이 예측되므로 환경 보전 측면에서 적절한 처리와 관리 대책이 시급한 실정이다.

이단 혼합형 ASBF system은 혐기성 소화공정으로 최근 개발되고 있으며 현장 적용이 되기 시작하는 고효율의 system인 UASB(upflow anaerobic sludge blanket)와 AF(anaerobic filter)를 혼합하는 형태로서 반응기내 고농도의 미생물을 유지하게 하며 이단에 의한 혐기성 미생물의 상분리는 공정을 안정하게 하는 역할을 하는 장점을 갖고 있다. 축산폐수는 평균적으로 고농도의 암모니아를 함유하며 이러한 암모니아의 농도에서 혐기성 미생물은 독성/저해 작용을 받게 되므로 이에 대한 공정의 개선이 필요하다. 따라서 본 연구는 암모니아 내성인 혐기성 미생물을 분리하고 성장조건에 대한 생리적인 조건을 확립하고 대량 배양하여 이단 혼합형 ASBF system에 식중함으로서 암모니아에 내성이면서 과부하에 안정적인 system을 구축 운전하고자 하였다. 이단 혼합형 ASBF system은 기존의 UASB와 AF system보다는 장점을 지닌 공정으로 축산폐수에 응용하면 좋은 결과가 있으리라 사료된다. 또한 혐기성 소화공정의 처리부산물인 biogas인 메탄은 대체에너지로 사용 가능하다. 이단 혼합형 ASBF system에 관한 기술개발은 축산폐수의 유기물질 처리에 대한 기술의 확보뿐만 아니라 또 유기성 산업폐수의 처리에 있어서 부유성 오염물질을 고농도로 함유하는 산업폐수의 처리에 응용성을 제고하고 있다. 암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 대량배양 연구는 암모니아를 다량 함유하는 축산폐수뿐만 아니라 단백질(식품가공폐수) 폐수의 혐기성 소화에도 응용성이 기대되며 혐기성 미생물에 대한 자료의 축적은 혐기성 소화공정의 향후 응용성을 제고할 것으로 기대된다.

이단 혼합형 ASBF system에서 처리된 축산폐수는 영양염류인 질소·인을

함유하고 있으므로 최근 각광받고 있는 조류인 광합성 세균의 다량 배양에 의하여 영양염류를 제거하도록 하고자 하였다. 광합성 세균은 고단백질의 함량이 높으므로 영양학적, 위생학적 문제가 해결되면 고부가 가치의 사료 및 식품 첨가제로 활용 가능하며 본 연구에서는 미생물비료로 개발하여 효과를 검증하였다. 이러한 미생물 비료는 앞으로 요구되는 친 환경 농자재 개발에 큰 도움을 주리라 사료된다.

본 연구의 계획서상 연구내용 및 범위에 대한 달성도는 Table 6-1에 요약하였다. 각 연구 내용에 대한 달성도는 연구평가인 착안점 및 척도를 기준으로 %로 표시하였다.

Table 6-1. 세부과제별 목표 달성 내용 달성도

세부연구과제	목표 달성 내용	달성도 (%)
이단 혼합형 ASBF system에 대한 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 축산농가의 선정 및 축산폐수의 발생량과 특성분석</li> <li>· Lab-scale 이단 혼합형 혐기성 소화공정의 설계 및 제작</li> <li>· 공정의 감시체제 확립</li> <li>· 유기물의 분해 정도와 메탄발생량 조사</li> <li>· 미디어 종류 및 깊이에 따른 혐기성 소화공정의 최적화</li> <li>· 이단화에 따른 혐기성 소화공정의 최적화</li> <li>· 체류시간, 유기물부하에서 정상운전에 의한 공정 최적화</li> <li>· 정상운전에 의한 10m<sup>3</sup>/d 규모 현장 시스템의 설계</li> <li>· 10m<sup>3</sup>/d 규모의 실증 Plant를 현장에 제작</li> <li>· 대량 배양된 암모니아 내성 혐기성 미생물의 접종</li> <li>· 실증 Plant의 시운전에 의한 정상운전 최적화 모색</li> </ul>	100%
암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 대량 배양 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 하수종말처리장 등으로부터 혐기성 미생물의 분리</li> <li>· 혐기성 미생물의 생리적 특성 규명</li> <li>· MCR 반응기에 의한 혐기성 미생물의 생육조건 확립</li> <li>· MCR 반응기에 의한 암모니아의 혐기성 미생물에 대한 독성 / 지해 영향 분석</li> <li>· 대형 배양기에 의한 암모니아 내성 혐기성 미생물의 대량 배양 조건 확립</li> </ul>	100%
생물학적 N, P 제거 및 균체 이용 방안 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 토양, 퇴비로부터 광합성균(Cyanobacteria)의 2차분리</li> <li>· 분리균주의 생리적 특성분석</li> <li>· 분리균주의 양분 흡수 기작 규명</li> <li>· 분리균주의 양분흡수 및 보유능력 분석</li> <li>· 폐수이용 균주 대량 생산 최적 pH 조절 방안 연구</li> <li>· 폐수이용 균주 대량 생산 위한 미량원소 첨가 효과 규명</li> <li>· 폐수 N,P 완전 흡수를 위한 균체 처리량 설정</li> <li>· 폐수량에 따른 균주 처리 시간 결정</li> <li>· 축산폐수 이용 균주 배양기 제조</li> <li>· 축산폐수 이용 연속 균주 배양법 개발</li> <li>· 균체의 효과적 회수 기술 개발</li> <li>· 균체 이용 생물비료를 이용한 발아 및 생육점검</li> </ul>	100%

본 연구개발사업의 결과에 의한 연구 성과는 다음에 요약되었다..

### 1. 인력 양성

가. 김춘미 선문대학교 석사 학위 (2002년 2월)

논문제목 : 고유기물 부하에서 혐기성 생물반응기의 성능에 관한 연구

나. 김양지 선문대학교 석사 학위 (2002년 2월)

논문제목 : 혐기성 소화에서 암모니아의 영향

### 2. 논문 발표

가. Kim, J.S. and Seo, J.W., Membrane Ultrafiltration for Apparent Molecular Weight Distributions of Dissolved Organic Matter, *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 43(1), 31-36, 2000.

나. 김종수, 이국희, 사동민, 양돈폐수 처리를 위한 혐기성 생물반응기의 성능 비교, *대한환경공학회지*, 22, 2047-2058, 2000.

다. 김종수, 서준원, 사동민, 암모니아 제거가 양돈폐수의 이단 ASBF 반응기에 의한 혐기성 소화에 미치는 영향, *한국폐기물학회지*, 18, 60-68, 2001.

라. 사동민, 김종수, Phosphorous accumulation and utilization efficiency in soybean plant under atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment, *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 44(1), 16-19, 2001.

마. Kim, J.S., Chung, B.S., Jeong, Y.T., Kim, J.H., Effect of Sodium Butyrate on Glycosylation of Recombinant Erythropoietin, *J. Microbial, Biotechnol.*, 11(6), 1087-1092, 2002.

바. 김종수, 양돈폐수의 혐기성 소화에 대한 암모니아의 영향, *한국유기성폐자원학회지*, 10(1), 102-108, 2002

사. Kim, J.S. and Kim, S.I., Anaerobic Digestion of Organic Wastes, *SERE S 2002, Wastes Recycling, Today and Tomorrow*, 217-232, 2002.

### 3. 학술회의 발표

가. 김종수, 혐기성 소화에 대한 암모니아의 영향, 한국유기성폐자원학회, 2002년 춘계 학술발표회, 카톨릭대학교, 4월 19일, 2002.

나. 김종수, 김양지, 김성일, MCR에 의한 암모니아의 독성평가, 대한환경공

- 학회, 2002년 춘계학술발표회, 선문대학교, 5월 3-4일, 2002.
- 다. 김종수, 김춘미, 김성일, 고유기물부하에서 혐기성 생물반응기의 성능에 관한 연구, 대한환경공학회, 2002년 춘계학술대회, 선문대학교, 5월3-4일, 2002.
- 라. 김종수, 김성일, Anaerobic digestion of organic wastes, 유기성 폐기물의 혐기성 소화 기술동향 및 향후전망, 자원순환형 사회구축을 위한 국제심포지움(SERES 2002), pp 225-232, COEX, 서울, 10월 1-2일, 2002.
- 마. Kim, J.S. and Gee, J.S., Forced nitrite accumulation followed by denitrification for treating anaerobic digester supernatant using SBR, Proceedings of Strong N and Agro 2003, IWA Specialty Symposium on Strong Nitrogenous and Agro-Wastewaters, pp 57-63, June 11-12, 2003,

## 제 7 장 연구개발 결과의 활용 계획

본 연구개발사업이 종료되는 2003년에 우리나라의 축산업은 대부분 전업 혹은 대기업 규모로 전환될 것이며 개발되는 이단 혼합형 ASBF system을 전업규모의 축산농가에 알맞게 package화함으로서 축산폐수의 효율적인 처리가 가능하게 되며 발생하는 메탄가스의 효과적인 이용을 제고할 것으로 전망된다. 참고로, 우리나라의 육우와 양돈시설에서 배출되는 축산폐수 총 발생량은  $7.3 \times 10^7 \text{ m}^3/\text{년}$  그리고 유기물 오염부하량은  $1.35 \times 10^9 \text{ kgCOD}/\text{년}$ 에 달한다. 혐기성 소화에 의하여 COD가 전부 메탄화 된다면( $1 \text{ kgCOD} = 0.25 \text{ kgCH}_4$ ) 메탄발생량은  $3.36 \times 10^8 \text{ kgCH}_4/\text{년}$ 이며 비교적 규모가 큰 전업규모 양돈농가의 경우(돼지 약 1,000두로서 축산폐수 발생량은  $10 \text{ m}^3/\text{d}$  그리고 축산폐수의 농도는  $18.4 \text{ kgCOD}/\text{m}^3$ 로서 COD 제거율 70%) 메탄 발생량은  $51.5 \text{ m}^3/\text{일}$ 이며 에너지로 환산하면  $440,000 \text{ kcal}/\text{일}$ 로서 반응조를 가열하는데 필요한 에너지를 제외하면  $200,000 \text{ kcal}/\text{일}$ 의 잉여에너지를 생산하게 된다. 이와같이 이단 혼합형 ASBF 공정 system은 적극 권장되어야 할 것이다. 처리용량  $10 \text{ m}^3/\text{d}$ 의 실증규모 이단 혼합형 ASBF system은 수리학적 체류시간 1일과 유기물부하량  $10 \text{ kgCOD}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ 에서 운전되므로 기존의 어떠한 혐기성 소화공정 보다는 우수하다는 것이 입증될 것으로 판단된다. 이러한 system에 대한 시장성은 충분한 것으로 사료된다. 농림부에 의하면 축산폐수 처리의 신고 및 허가대상인 전체 축산농가 수는 99년 말 기준 12,000여개이며 2000년 1월부터는 처리시설을 갖추고 처리하여야 하는 입장에 있다. 본 연구개발사업의 결과를 환경과 관련 있는 기업을 선정하고 실용화를 담당하도록 할 계획으로 있다. 특히 본 과제에서 개발된 system이 정상운전으로 실효성이 증명되면 기업으로 하여금 인력자원을 확보하도록 하며 금융권과도 긴밀하게 협조하여 산업화를 위한 제반 노력을 경주할 계획이다.

생물학적 비료로서 Cyanobacteria가 처리됐을 때와 화학질소 비료  $30 \text{ kg}/\text{ha}$ 를 처리한 경우 쌀 수확량은 같다고 보고 되어 있으며, 몇몇 경우에 생물비료로서 Cyanobacteria처리가 화학 질소비료와 함께 투여되면  $20 \sim 30 \text{ kg}/\text{ha}$ 의 화학 질소비료를 추가 처리된 경우와 견줄만한 효과를 나타내었다. 몇몇의 실험실내 또는 야외 실험에서 한 가지 종류나 또는 몇몇 종이 혼합된 Cyanobacteria 생물비료는 벼의 초장, 건물량, Chlorophyll a 함유량과 벼의 수확량을 증가시키는

것으로 보고 되고 있다. 또한 양서류 *Azolla*는 Cyanobacterial *Anabena* sp.와 공생 공존하며 인도, 중국, 필리핀, 타이완과 같은 나라에서 논·논의 녹색 비료로서 널리 사용되고 있으며 연간 ha당 100 kg의 질소를 공급하고 있는 것으로 알려져 있다. 화학적 방법에 의한 질소로부터 암모니아의 생성은 매우 많은 비용이 든다. 공생적인 Cyanobacteria의 생물 비료로써의 이점은 상대적으로 낮은 비용으로 생산 될 수 있다는 것이다. Cyanobacteria에 의한 질소 고정은 토양의 유효 질소 함량을 늘려 적은 량의 화학 비료 시비로 작물 생산량을 늘릴 수 있는 방법이다. Cyanobacteria는 외부의 환경 변화 및 stress에 내성이 강하고 적응력이 좋아 벼농사를 비롯한 여러 작물 생산체계에 생물학적 비료로써 이용 가능성이 매우 높다. 세계적으로 여러 나라에서 Cyanobacteria가 생물 비료로 사용되어 200만 ha 이상의 논을 비옥하게 만든다고 보고 되어 있다. 질소는 모든 식물이 가장 많이 요구하는 다량 원소이다. 많은 energy가 요구되는 화학 질소 비료의 사용을 줄이면 경제적인 효과와 더불어 최근에 비료성분 유출에 따른 환경친화적 영농방법 개발에도 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

## 제 8 장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학 기술정보

이단 혼합형 ASBF system에 관한 연구와 기술개발은 연구개발 과정 중에 미생물에 관한 연구, 고농도의 혐기성 미생물을 유지하기 위한 혐기성 반응조의 개발에 관한 연구, hybrid ASBF 반응기의 성능에 대한 연구, 그리고 Staging 또는 phase separation이 혐기성 소화에 미치는 영향에 대한 연구에 대한 과학기술정보를 요약하였다. 혐기성 미생물에 관한 연구로서는 혐기성 소화공정이 유기 물질의 메탄화에 효과적으로 이용되기 위해서는 혐기성 미생물의 생육 조건(pH, alkalinity, 온도, 영양 물질 등)에 관한 연구가 있다. 혐기성 미생물에 적절한 pH는 6.8 ~ 7.4의 좁은 범위이며, 이러한 pH에 영향을 미치는 주요 인자는 유기 물질 분해 과정에서 생성되는 CO<sub>2</sub>이다. 혐기성 소화공정에서 CO<sub>2</sub>에 의한 산도(acidity)의 완충 작용을 위해서는 bicarbonate alkalinity의 기능이 중요하며, 이온화 강도(ionic strength)와 gas phase에서 20% CO<sub>2</sub>가 pH 7로 평형을 이루기 위해 bicarbonate alkalinity는 적어도 2,000 mg/L 이상이 요구된다. 혐기성 미생물의 적정 생육 온도는 중온 메탄균은 35℃, 고온 메탄균은 55℃ 정도이며, 45℃ 부근에서는 효율이 감소되는 것으로 알려져 있다. 고온 소화는 중온 소화에 비해 메탄 생성 속도가 2배 정도 빠르다고 알려져 있다. 따라서 고온 혐기성 소화는 중온 소화에 비해 소요되는 반응조의 용적이 반 정도 감소되지만 온도 변화와 주변 환경에 보다 민감한 특징이 있다. 혐기성 소화에서 유기물질은 메탄과 CO<sub>2</sub>로 전환되는 동시에 일부분은 생물학적 세포로 전환되면서 성장하게 된다. 그러나 미생물 성장에는 이와 같은 유기물질 이외에도 영양물질로 질소와 인이 필요하다. 질소는 세포 단백질, 효소, RNA 그리고 DNA의 합성에 요구되며 필요량은 생체생성량의 약 11%이고, 인의 경우 ATP, RNA 및 DNA 등의 합성에 요구되며 생체생성량의 약 2% 정도 필요하다. 또한 철, 코발트, 니켈 그리고 sulfide 등을 비롯한 몰리브덴, 텅스텐, 셀렌 등의 미량필수원소역시 메탄 생성 미생물에 필요하다고 보고 된바 있다. 산업 폐수의 혐기성 처리에서 음성적인 결과가 나타나는 것은 혐기성 미생물에 대한 미량필수원소의 결핍 때문이기도 하다. 그 외에도 산화환원 전위, 독성 물질의 제거, 상호 응집성 등도 미생물 생육에 많은 영향을 미친다. 공정 중에 휘발성 산이 증가한다는 것은 아세트산 생성균의 영양물질이 불충분하다는 것을 나타내고, 고농도 산의 전환에 관여하여 적절한 수소 레



벨을 유지해야만 하는 수소 이용 메탄 생성균의 영양분이 부적절한 것에서 기인한다. 혐기성 소화공정에서 메탄 생성 반응에 관여하는 미생물의 일반적으로 알려져 있는 특징은 다음과 같다. 산 발효균(fermentative bacteria)은 혐기성 소화공정의 처음 두 단계인 가수분해와 산 형성 단계에 관여하고, 고분자 유기 물질을 분해하는 과정에서 중요한 역할을 하며, 탄소 원으로서 CO<sub>2</sub>와 유기산, 질소원으로서 암모니아성질소, cystein과 sulfide, 그 밖에 비타민 B, hemin, menadione, 그리고 몇몇 미네랄 염 특히, 나트륨 염이 성장 조건으로서 필요하다. 또한 산 발효균은 낮은 수소 분압에서 acetate, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> 전환에 열역학적으로 적합하나, 높은 수소 분압에서는 단지 propionate, lactate와 ethanol 으로부터 전환 가능한 것으로 보고 되고 있다. 수소 발생 아세트산 생성균(hydrogen producing acetogenic bacteria)은 alcohols과 방향족 화합물(benzoate)보다 많은 양의 propionate와 몇몇 다른 유기산을 acetate와 CO<sub>2</sub>로 대사 시키는데 관여하므로 혐기성 소화에서 매우 중요하게 인식되고 있다. 수소 이용 아세트산 생성균(homoacetogenic bacteria) 또한 메탄의 가장 중요한 전구물질인 acetate를 최종 생산물로 생산하기 때문에 최근 중요성이 강조되고 있다. 이 과정에 관여하는 미생물은 chemolithotrophic, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>를 소비하게 된다. 메탄 생성균(methanogenic bacteria)의 대부분은 H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>를 이용하는 중이며, *methanosarcina*(acetate, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, methanol, methylamines), *methanotrix*(only acetate), *methanococcus*의 3종만이 acetate를 기질로 이용하는 메탄 생성균으로 알려져 있다. 혐기성 소화가 효율적으로 진행되고, 메탄 발생이 최적으로 이루어지기 위해서는 미생물이 집단을 이루게 하거나 내부 충전제에 부착, 생물막 형태를 나타나게 하는 것이 중요하며 미생물이 집합체를 형성하는 현상을 microbial flocculation, pelletization 혹은 granulation이라 한다.

고농도의 혐기성 미생물을 유지하기 위한 혐기성 반응조의 개발에 관한 연구에서는 현재 국내의 거의 모든 유기성 폐하수의 처리는 건설 및 운전비용이 막대하게 소요되는 호기성 생물학적 처리에 의존하고 있다. 혐기성 소화공정은 국내에서 혐기성 미생물에 대한 이해 부족, 기술의 미비함으로 재래식 공정에 의한 분뇨와 하수 슬러지의 처리에 제한적으로 이용되어 왔다. 또한 기술의 개발과 그에 따른 설비는 대부분 외국의 기술을 답습하고 있고, 처리 기술의 수준도 낮아 혐기성 소화에 의한 메탄의 회수, 이용에 대한 실적은 거의 없는 형편이며, 운전상의 많은 문제점을 내포하고 있다. 1980년대부터 고농도의 유기 물질을 함유하

는 산업 폐수의 처리와 메탄의 이용을 목적으로 혐기성 소화의 중요성이 인정되기 시작하면서 실험실적 연구가 진행되고 있다. 국외의 경우 혐기성 소화의 단점을 극복하기 위해 각종 폐수의 처리 효율이 높으며 메탄 발생을 극대화 할 수 있는 안정적인 혐기성 소화공정을 유지하기 위하여 공정 내 혐기성 미생물의 생체량을 높은 농도로 유지할 수 있는 반응기의 적절한 선택이 요구되고 있으며, 환경오염 방지와 대체 에너지 개발 측면에서 재래식 메탄 발효 공법의 단점을 보완한 고율 메탄 발효 공법의 개발이 1970년대 석유 파동 이후 활발히 진행되어 오고 있다. 최근까지 개발된 혐기성 소화공정으로 대표적인 공정은 미생물의 부착 성장에 의한 방법으로 북미에서 개발된 AF 공정 그리고 부상 슬러지 입상화에 의한 방법으로 유럽에서 개발된 UASB 공정이다. AF와 UASB 두 공정은 높은 유기물 부하가 가능하며 처리 효율도 우수한 것으로 나타나고 있으나, AF 공정의 경우 filter media에 부착 성장한 미생물에 의한 막힘(clogging)과 단류현상(short-circuiting) 그리고 UASB 공정은 슬러지의 입상화와 상층부의 고·액·기상의 분리가 어려운 단점 그리고 공정의 안정성 등과 같은 개선되어야 할 문제가 있는 것으로 평가되고 있다. 그 외에도 초기에는 CSTR 타입의 반응기가 주종을 이루었으며, 유입수의 solid 량이 많을 경우와, 대개 하수 종말 처리장 및 분뇨 처리장에서 많이 이용되어 왔다. PB, AFB, AEB, Baffled Reactor, Membrane 이용 반응기, UASB와 AF 병용의 hybrid인 ASBF, 그리고 산 형성과 메탄 형성의 상분리에 의한 two-stage 반응기 등의 고율 혐기성 소화공정이 개발되어 실제 유기성 산업 폐수의 처리에 적용되고 있다. Speece는 공간의 소요, 에너지 소비량, OLR, 부유성 고형물 처리 요구도, COD 제거 요구도가 반응기 구성의 평가 요소라고 말했으며, Young과 Yang는 반응기 구성의 가장 중요한 요소가 HRT, media type, 흐름 방향(flow direction)이라고 보고한 바 있다.

Hybrid ASBF 반응기의 성능에 대한 연구에서는 hybrid ASBF 공정은 부상 슬러지 입상화에 의한 UASB 공정과 미생물의 부착 성장에 의한 AF 공정의 장점을 복합한 형태이다. ASBF 공정은 상부 일정 공간에 filter media를 충전 함으로서 혐기성 미생물의 현탁·입상화 성장 및 부착 성장을 동시에 유도하며, SRT(sludge retention time ; 고형물 체류 시간)를 길게 유지할 수 있고, 반응조 내 미생물을 고농도로 유지할 수 있어 높은 유기물 부하가 가능한 공정이다. 또한 반응조 내 filter media는 고·액·기상의 분리 역할을 겸하며, filter 부분에만 미생물이 부착 성장하므로 미생물에 의한 막힘 현상이나 단락류, 편류 현상을 감

소시킬 수 있다. 주로 사용되고 있는 filter media에는 crossflow 타입, tubular 타입, random 타입 등이 있으며, 더욱 다양한 종류 및 형태, 막힘 및 단락류, 편류를 방지할 수 있는 기능의 filter media의 개발이 촉구되고 있는 실정이다. Filter media의 비표면적(specific surface area)은 biomass의 보유 능력과 밀접한 관련이 있으며, 높은 공극율(porosity)과 공극의 크기(pore size)는 낮은 공극율을 가진 filter media와 비교하여 반응조 부피를 유용하게 사용할 수 있는 특징이 있고, filter media의 크기와 모양은 반응조 내의 혼합 및 흐름 형태에 영향을 미친다. Aivasidis와 Wandrey는 생물막 형성을 위해 표면의 거칠기(surface roughness)와 틈(crevices and niches), 즉 공극의 알맞은 존재가 가장 중요한 요소라고 말했다. 그러므로 적절한 filter media의 선택은 혐기성 소화공정의 효율적인 운전을 위한 주요 요소가 된다. 이에 따라 filter media의 특징(specific surface area, porosity, pore size, shape, channel slope 등)에 따른 filter 디자인 및 media의 깊이가 혐기성 소화에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. Song과 Young은 filter media의 디자인 요소에 대해 연구하였는데, media의 비표면적은 반응기 디자인의 주요 인자는 아니지만 재분배 흐름을 위한 media의 능력에는 큰 영향을 미친다고 말했다. 또한 같은 비표면적에서 crossflow 타입이 tubular 타입의 media에 비해 성능이 우수하였는데, 이것은 crossflow media의 틈 사이로 재분배되는 흐름이 내부 혼합을 증가시켜 결과적으로 기질과 미생물 간의 접촉을 원활히 하여 COD 제거율이 증가하고, media matrix 내에 고형물을 보유할 수 있는 능력이 우수하여 효과적으로 SRT를 증가시킬 수 있기 때문이라고 보고하였다. Bonastre와 Paris는 이상적인 media 특성에 대해 제안하였고, 그러한 media는 높은 volume/area 비, 미생물 부착을 위한 표면의 거칠기, 생물학적으로 불활성 및 내구성을 가져야 하고 저렴하며, 알맞은 모양, 공극율과 크기의 적절한 선택이 가능하여야 한다고 말했다. Tay, Show와 Jeyaseelan 또한 공정의 성능에 filter media의 특성이 미치는 영향을 연구하였고, 가장 큰 pore size와 porosity에서 가장 높은 COD 제거율을 얻을 수 있었는데 이는 큰pore size와 porosity는 media 내의 빈 공간에 부유성 biomass를 다량 보유할 수 있었기 때문이었다. 같은 비표면적일 때 porosity와 pore size가 증가하면 COD 제거율이 향상되고, 같은 porosity에서는 비표면적 보다 pore size의 역할이 공정 성능 향상에 많은 영향을 미친다고 보고하였다. Oleszkiewicz, Hall과 Oziemblo는 media의 깊이를 다르게 했을 때 hybrid 반응기의 성능을 비교하였다. 반응기 총 부피

와 충전된 media의 부피비가 증가할수록 biomass 보유량이 증가하여 반응기의 성능이 증가했으며, 부피비 0.4와 0.5에서는 실험 기간 동안 COD 제거율 90% 이상을 유지하였으나, 0.05와 0.25인 반응기에서는 높은 OLR에서 COD 제거율이 50% 이하로 저하되었다고 보고하였다. Oleszkiewicz와 Thadani는 media를 사용하지 않은 UASB 반응기와 PVC tubing(rough surface)을 세로로 장착한 반응기가 random 타입의 rashing ring을 충전한 반응기에 비해 부유 고형물의 유실이 증가하고, 단락류가 발생하며, COD 제거율과 가스 생성율이 낮아졌음을 보고하였다. 이는 random media가 많은 고형물의 체류와 반응기 부피의 효율적인 이용을 가능하게 했기 때문이었다. Guiot와 van den Berg는 상부 1/3을 plastic ring으로 충전한 UBF(Upflow Blanket Filter)를 운전하여 biomass의 보유 능력과 공정의 성능을 향상시킬 수 있었으며, media의 충전에 의해 반응기 단위 부피당 높은 biomass 함유율을 얻을 수 있었다. 또한 UBF의 상부에 filter media를 충전했을 때, 충전된 공간은 biomass의 활성화에 유용하게 작용하며 biomass와 고형물의 분리 역할을 할 수 있는 이점이 있다고 말했다. Kennedy와 Guiot는 UBF 반응기는 높은 OLR, 짧은 HRT에서 고농도 biomass의 높은 활성화와 긴 SRT, 그리고 고농도 폐수의 처리가 가능하며, 충격 부하에 대한 저항력이 강하고 그 때에 정상적으로 회복되는 시간이 짧게 소요된다고 말했다. 또한 packing media의 깊이 (32, 16, 8%)가 유출수의 농도에 현저한 영향을 미치지 않는 않지만, 메탄 박테리아가 유실되는 DC(critical dilution rate, 1/d)에는 영향을 미친다고 보고했다. Lo, Liao와 Gao는 fixed-film으로서 rope matrix를 이용한 hybrid UASB 반응기를 이용하여 축산 폐수를 처리하였을 때, 식중 없이도 축산 폐수의 알맞은 처리가 가능하며, 반응기 내 biofilm은 공정의 안정도를 증가시키고, 일정한 메탄 생성량을 유지시킬 수 있었다고 보고하였다.

Staging 또는 phase separation이 혐기성 소화에 미치는 영향에 대한 연구로서 공정의 이단화는 혐기성 미생물들이 각기 다른 환경 조건 (pH, alkalinity, 온도 등), 다른 종류의 기질과 기질 농도, 각각의 중간 대사물에 노출되도록 하며, 각기 다른 반응기의 연결로 biomass의 물리적 분리나, granules 또는 biofilm 사이로 biomass가 채워짐에 따라 이루어진다. 이러한 확산 작용은 다른 환경 조건, 다른 기질과 기질 농도에 노출된 다양한 미생물들의 역할이 결정적인 요인으로 작용한다. 혐기성 소화공정에서 상분리(phase separation, phasing) 혹은 공정의 이단화(staging)를 통해 얻을 수 있는 이점은 다음과 같다. 폐수 내 유기 물질의

가수분해와산 발효를 위한 산 형성조 그리고 메탄 형성조로 상을 분리하여 각 반응조의 미생물에 대한 환경 요인을 적합하게 할 수 있으므로 혐기성 소화공정의 안정성을 도모하여 메탄 박테리아의 비활동도를 증가시키며, 다양한 미생물 그룹의 에너지 수율을 개선시킬 수 있다. 또한 공정의 변형이 용이하여 메탄 생성 미생물에 독성 영향을 주는 암모니아의 in-line 제거가 가능하고, 유입수에 포함된 독성 물질로부터 이후의 생분해 작용을 보호할 수 있다. 일단에서 발생하는 높은 농도의 중간 대사물인  $H_2$ 를 배출하여 다음 메탄 생성 단계에  $H_2$  부하를 감소시켜 최적 메탄 발생을 유도할 수 있다. 또한 반응기의 유기물 부하 능력을 향상시킬 수 있으며, COD와 VS(volatile solid ; 휘발성 고형물), VFA(volatile fatty acids ; 휘발성 지방산)의 제거 효율을 증가시킬 수 있었다. 그러나 단점으로는 산 형성기간 동안 첫째 단에서 수소 농도의 증가로 산 생성 박테리아 활성을 저해하게 되며, 산과 메탄 생성 박테리아의 영양 요구(nutritional requirement)의 상호 작용을 억제하게 된다. Bhattacharya 등은 재래식 혐기성 슬러지 소화에 비해 two-phase 소화에서 VS의 제거율이 8.7% 정도 증가하였다고 보고하였다. Duran과 Speece는 main CSTR에 앞서 상대적으로 작은 부피의 반응기로 단을 분리하여 높은 F/M(food/microorganism)비로 운전하였을 때, 계속해서 증가되는propionate의 농도를 성공적으로 감소시킬 수 있었고, F/M 비가 적어도 2.5 이상, 접촉 시간이 24시간 이상일 때 최대의 propionate 농도와 COD 제거율에 효과적이고, 공정의 성능을 향상시킬 수 있다고 보고하였다. Sarada와 Joseph은 tomato processing waste를 상분리를 통해 처리하였을 때, 비슷한 조건 하에서 일단공정에 비해 가스 생성율은 50%, 총 가스와 메탄 수율은 40%가 증가하였다고 보고하였다. Massey와 Pohland, Ghosh와 Klass는 상분리에 의해 공정의 성능을 향상시켰다고 보고하였는데, 이는 상분리를 통해 단일 상, 단일 단 공정의 두 미생물 그룹이 주어진 환경 속에서 강제 운전으로 각상 및 각단의 환경 조건을 최적화 시켰기 때문이다. Cohen 등은 이상 시스템이 단상 시스템보다 biomass당 COD 부하 및 가스 생성율이 3배가 높았으며, 충격 부하 조건에서 일단과 이단의 CSTR을 비교 운전하여 두 반응기에 VFA가 축적되는 동안 이상 시스템은 단상 시스템에 비해 정상적인 운전 조건으로 회복되는데 1/5 정도의 회복 시간이 소요되었다고 보고하였다. Bull 등은 정상 상태와 다양한 운전 조건에서 이상 시스템의 유출수질과 가스 생성율이 향상되었고, 충격 부하에서 빠르고 안정된 회복율을 보였으며, 휘발성 산의 분해가 일단 시스템 보다 약 2배

정도 빠르다고 보고하였다. Wiegant 등은 고온 혐기성 소화에서 propionate 분해를 위한 staging에 대해 연구하였다. 종종 분해가 어려운 문제점이 있었으나 일단과 이단의 UASB 공정을 비교했을 때, 이단 공정의 처리 효율이 약 10 ~ 13% 정도 우수하였고, 첫째 단에 포함된 biogas의 제거로 인해 효율을 향상시킬 수 있었다는 결론을 얻었다. Anderson 등은 이단 소화공정에서 미생물 그룹의 변화를 연구하였다. 이상 시스템은 각 반응기에서 다른 종류의 미생물의 선택과 충분한 보유가 가능했으며, 공정의 안정도를 향상시킬 수 있었고, 이전의 산 형성 단계에 대해 메탄 생성 단계의 완충 작용이 가능했음을 보고하였다. Van Lier 등은 상향류 반응기를 구획하여 고온 혐기성 소화를 연구하였다. 이들은 PFR(plug flow reactor : 압출유형 반응기)이 유출수 내의 낮은 VFA 농도, 높은 biomass 보유율과 안정적인 운전에 효과적이었음을 보고했다. 또한 sucrose-VFA 또는 VFA 혼합 기질을 사용했을 때, VFA 기질은 입상화가 거의 안된 반면 sucrose는 입상화를 촉진시키는 결과를 얻었다고 말했다. Sucrose는 첫 번째 구획에서 분해 되었고, butyrate와 acetate 분해는 다음 구획에서 이루어졌으나, propionate는 분해가 가장 어려운 중간 산물로서 마지막 구획에서 분해되었다. Acetate와 수소 모두는 propionate의 전환에 악영향을 미치므로 CSTR 구성은 유출수 내의 VFA 농도를 증가시키지 않고 높은 유기물 부하를 유지하기에는 부적절하지만, 공정의 staging은 높은 유기물 부하에서 유출수의 낮은 VFA 농도를 유지시킬 수 있다고 보고했다.

암모니아 내성 혐기성 미생물의 분리 및 대량 배양에 대한 해외과학 기술정보로는 대부분 연구에 대한 것으로 기술개발은 거의 없는 형편이다. 연구로서는 혐기성 소화공정의 미생물에 저해작용을 하는 암모니아의 농도는 TAN(total ammonium nitrogen)으로 분석되고 pH에 따라 다음과 같이 해리하여 UAN(unionized ammonium nitrogen)과 IAN(ionized ammonium nitrogen)으로 존재한다고 보고 되고 있다. 즉,



pH가 pKa보다 낮은 조건에서 IAN 그리고 높은 조건에서 UAN이 주로 존재한다. 일반적으로 TAN이 700 ~ 3,000 mg/L이면 혐기성 미생물의 활성화에 저해작용을 미치고 3,300 mg/L는 한계농도, 4,200 mg/L에서는 모든 세포의 성장이 정지되지만, TAN에 3개월 동안 적용된 경우 7,000 ~ 11,800 mg/L에서도 독성/저해 작용이 일어나지 않는 것으로 알려져 있다. 또한 McCarty는 pH 7.4이상

TAN 1,500 ~ 3,000 mg/L에서 역제가 일어나고, 3,000 mg/L이상이면 pH와 상관없이 독성이 나타난다고 보고 된 경우도 있다. 주로 혐기성 미생물에 독성/저해 작용을 하는 UAN는 동일한 TAN에서도 온도와 pH 조건에 따라 농도가 달라지며 40 ~ 120 mg/L에서 산생성균 보다는 메탄생성균의 대사 경로에 치명적인 영향을 미치는 것으로 보고 되고 있으나, 3개월의 적응기간을 거친 메탄생성균은 1,100 mg/L에서도 독성/저해작용을 하지 않는 것으로 보고 된 경우도 있다. UAN이 혐기성 소화 미생물에 저해하는 mechanism을 살펴보면 acetic acid를 CH<sub>4</sub> 와 CO<sub>2</sub>로 전환시키는 acetoclastic methanogenesis에 가장 크게 저해작용을 하며 H<sub>2</sub>와 CO<sub>2</sub>를 CH<sub>4</sub>와 H<sub>2</sub>O로 전환하는 hydrogenotrophic methanogenesis의 활성이 UAN에 의해 영향을 받는다. 또한 propionate와 H<sub>2</sub>O를 acetate와 H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>로 전환시키는 syntrophic acetogenesis(HPr-utilizers)가 UAN에 의해 영향을 받는다고 보고 되고 있다. Hashimoto에 의하면 식중원으로 축산폐수를 이용한 경우 중온소화와 고온 소화의 경우 암모니아(as TAN) 2,500 mg/L에서 저해영향이 일어난다고 보고하였다. 하수종말처리장 혐기조의 슬러지 70%, 주정폐액처리 UASB 입상슬러지 30%의 혼합비의 식중원을 이용한 오세은 등에 의하면, UAN 65-250 mg/L에 적용된 경우, UAN 500 ~ 600 mg/L에서도 큰 저해영향이 일어나지 않고, UAN 1,000 mg/L에서 강한 저해영향이 일어난다고 보고하였다. Van Velsen은 암모니아성 질소의 농도가 815 mg/L(as TAN)인 하수처리장 혐기성소화조 슬러지와 2,420 mg/L(as TAN)인 돼지분뇨를 식중원으로 이용하여 식중원에 따른 암모니아(as TAN)의 영향을 비교하였다. 그 결과, 하수종말처리장 혐기성소화조의 슬러지를 식중원한 경우 암모니아성 질소의 농도가 730-4,990 mg/L(as TAN)로 증가할수록 저해영향이 증가하였고, 돼지분뇨를 식중원한 경우 605-3,075 mg/L(as TAN)로 암모니아의 농도가 증가하여도 큰 저해영향이 일어나지 않는다고 하였다. 식중원의 종류에 상관없이 메탄 생성율은 암모니아의 농도가 증가할수록 서서히 감소한다고 보고하였다.

폐수에 포함된 질소와 인의 규제가 강화되면서 조류를 이용한 산업 폐수, 축산 폐수, 도시 하수, 지하수에서 질소와 인의 제거를 위한 연구 및 기술 개발이 선진 외국에서도 활발히 진행되고 있다. 또한 최근보고에 의하면 광합성능이 있는 미세조류를 이용한 폐수 처리의 장점은 첫째, 생태적 원칙을 이용한 방법이고, 둘째, 환경 친화적 이고, 셋째, 이차 오염을 발생시키지 않고, 넷째, 생성된 미세조류를 수거해 재이용할 수 있는 장점을 가지고 있으나, 단점으로는 첫째, 세

대시간이 길고, 둘째, 조류를 수거하는데 어려움과 비용이 많이 소모되고, 셋째, 빛이 필수적이고, 넷째, 조류의 농도가 낮고, 다섯째, 그들의 생리학적 연구가 많이 수행되지 않았다고 하였다. 양돈 폐수의 특성은 고농도의  $\text{NH}_4\text{-N}$ 을 함유하여 미생물이 쉽게 분해 할 수 없는 유기 물질의 함량이 높고 COD : BOD의 비율이 부적당하여 생물학적 폐수처리 과정에서 많은 단점을 가지고 있는 폐수 중 하나이다.  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도는 사육 방법과 축산 관리에 따라 차이가 있으나 약 2,500 ~ 4,500 mg/L 정도로서 저장 조건에 따라 총 질소량의 50 ~ 75 % 는 암모니아와 암모니움 상태로 용해되어 있으며, 폐수가 산성일 때는 암모니움 이온을 형성하고 알칼리성일 때는 암모니아 가스 상태로 혐기성 소화 공정에서 중요한 역할을 하고 있는 미생물에 저해 작용을 하게 된다. 3,000 mg/L 이상의 고농도  $\text{NH}_4\text{-N}$ 은 독성을 나타내는 것으로 보고 되고 있으며 일정 농도를 초과할 경우 산 생성균 보다는 메탄 생성균의 대사 경로에 치명적인 영향을 미치게 되고 4,200 mg/L를 초과할 경우 메탄 생성균 뿐만 아니라 다른 혐기성 미생물들의 성장도 정지된다고 보고하고 있다.

일본에서는 광합성 세균을 이용하여, BOD 10,000 ppm 이상의 고농도 유기성 폐수를 희석하지 않고 단시간 내에 처리함으로써 활성오니법에 비해 처리 장치가 소형화될 수 있고 부지, 건설비, 운전 경비 등이 크게 절감될 수 있다고 보고하였으며, BOD 부하량의 변동에 따른 영향이 적고, 이용되는 미생물군의 생리적 특성이 비교적 단순하므로 운전 관리가 용이하며 악취가 발생하지 않는다는 장점이 있다고 보고하였다. 또한, 광합성 세균은 영양 요구성이 다른 미생물보다 단순하고 혐기, 호기, 및 명·암조건의 어떠한 환경에서도 산소의 확산 속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있으며, 활발한 운동성을 가지고 있고 유기 물질의 섭취 속도가 높은 특성을 가지고 있다.

광합성 세균 세포에는 색소체로(color pigment) 4종류(phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin, phycoerythrocyanin)가 있다. 이들 색소의 주된 역할은 빛 에너지를 흡수하여 화학 에너지로 바꾸는 것인데 cyanobacteria는 빛의 환경에 따라 피코 빌리솜(phycobilisome)의 조성을 바꿈으로서 열악한 환경에도 적응하는 것으로 보고 되고 있다. 또한 대부분의 조류는 세포벽에 셀룰로스(cellulose), 펙틴(pectin), 다당류(poly-saccharide)등을 기본 물질로 하는 비교적 견고한 막을 가지고 있으며 점성의 차이가 큰 각종 점액성 고분자 물질을 분비하고 있으므로 어느 정도의 pH 변화에서도 완충능을 가지고 있어서 특정한 환경



에서도 세포체의 기능을 유지 할 수 있다. 그러나 우리나라에서는 이렇게 광범위한 서식지와 환경 적응능이 우수한 조류를 이용한 폐액 내 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 또한 광합성 세균(cyanobacteria)은 다양한 토양조건 및 탄소의 영향 하에서도 질소 고정능을 계속 가지고 있어서 연간 생태계에서 연간 3천 500만 톤의 질소를 고정하여 토양의 비옥도 유지 및 증진에 큰 기여를 하고 있으며 온도, 염분 등에 내성이 있고 기타 균체에 비하여 고농도의 질소를 보유함으로 국내에서도 화학비료를 대체할 생물비료로써 이용 가능성이 매우 높다.

## 제 9 장 참고문헌

- [1] 홍순석, 박상전, 홍종준, “농·축·수산 폐기물의 메탄전환에 관한 기초연구”, 폐기물자원화, 6(1), 31~42, 1998
- [2] 임항식, “양돈폐수의 막여과 과정에서 막힘현상의 원인규명”, 충북대학교 석사논문, 1997
- [3] (주)대우 건설기술연구소, “고성능 메탄발효조 실용화 연구”, 1992
- [4] 한국종합에너지연구소, “메탄발생 및 이용에 관한 연구”, 1980
- [5] 한국동력자원연구소, “메탄가스 발생장치 운전기술 기준에 관한 연구”, 1987
- [6] 이국희, “축산폐수의 효율적 처리를 위한 혐기성소화 생물반응기의 성능비교”, 선문대학교 석사논문, 1999
- [7] 과학기술처, “혐기성 박테리아를 이용한 폐수 정화용 고성능 Bioreactor 개발”, 1991
- [8] 선용호, 황경엽, “혐기성 발효에 의한 고효율 메탄 저조 공정 개발”, 한국생물공학회지 6(2), 129-133, 1991
- [9] 최경민, 박응로, 주홍신, 양재경, 이기영, 이성택, 이무춘, “광합성 세균을 이용한 돈분 폐수 처리에 관한 연구”, 폐기물자원화, 4(2), 11~17, 1996
- [10] Harada, H., “UASB법에 의한 고온·고농도 폐수처리 연구동향“, 첨단환경기술, 1, 15~21, 1996
- [11] 차기철, “혐기성소화법에 의한 고농도 유기성폐수처리(1)”, 첨단환경기술, 1, 5~14, 1996
- [12] 송영채, “혐기성 유동상 반응조를 이용한 폐수처리”, 한국과학기술원 석사논문, 1990
- [13] 백병천, “용존복합폐수 처리를 위한 UASB 반응조운전 연구”, 한국과학기술원 박사논문, 1990
- [14] 이찬기, “고정층혐기성슬러지를 이용한 분뇨처리”, 대한토목학회지, vol. 25, no. 2, pp. 61-65 (1977).
- [15] 이광호, “분뇨와 정화조 슬러지 혼합액의 혐기성소화에 관한 연구”, 전북대학교대학원 토목공학과 박사학위논문집 (1984).
- [16] 양병수, “부상매디아를 이용한 폐수의 혐기성처리”, 동아대학교 대학원 환경공학과 박사학위논문집 (1984)
- [17] 양병수, 진혁국, “부착미생물을 이용한 폐수의 혐기성처리시 온도의 영향”,

- J. Kor. Wat. Pollut. Contr. vol. 2, no. 1, pp. 13-25 (1986)
- [18] 민경희, 김치경, 조민기, “대학미생물학”, 탐구당, (1994)
- [19] 오세은, 이채영, “고농도 암모니아를 함유한 돈사폐수의 고율혐기성 소화시 메탄균의 활성연구”, J. of KSEE, 22,(55), pp. 981-987, (2000)
- [20] 김종수, 서준원, 사동민 “암모니아 제거가 양돈폐수의 이단 ASBF 반응기에 의한 혐기성 소화에 미치는 영향”, 한국폐기물학회, 18(1), pp. 60-68, (2000)
- [21] 김종수, 이국희, 사동민, “ 양돈폐수 처리를 위한 혐기성 생물반응기의 성능 비교”, J. of KSEE, 22(11), pp.2047-2058, (2000)
- [22] 한국과학기술원, “전국 축산분뇨 적정관리대책 연구”, 한국환경과학연구협의회, 1990
- [23] 농림부, 농림통계, 1998
- [24] 국립환경연구원, 환경자료집, p400-406, 1996
- [25] 김진아, “축산 폐수의 혐기적 처리를 위한 암모니아성 질소의 제거 공정에 관한 연구”, 선문대학교 석사논문, 1998
- [26] 신항식, 구자공, 신한국, 정연구, 김종오, “상수원 보호를 위한 축산분뇨의 적정관리 방안”, 한국폐기물 학회, 7, 45-52, 1990
- [27] Alderman, B. J., Theis, T. L. and Collins, A. G., “Optimal design for anaerobic pretreatment of municipal wastewater”, J. Env. Eng., 124(1), 4-10, 1998
- [28] Zhang, R. H., Yin, Y., Sung, S. and Dague, R. R., “Anaerobic treatment of swine waster by the anaerobic sequencing batch reactor”, Trans. ASAE, 40(3), 761-767, 1997
- [29] Lettinga G. and Pol L. H., “Advanced reactor design, operation and economy”, Wat. Sci. Tech., 18(12), 99-108, 1986
- [30] Kennedy K. J. and Guiot S. R., “Anaerobic upflow bed-filter development and application”, Wat. Sci. Tech., 18(12), 71-86, 1986
- [31] Omil, F., Mendez, R. and Lema, J. M., “Anaerobic treatment of seafood processing wastewaters in an industrial anaerobic pilot plant”, Wat. SA, 22(2), 173-181, 1996
- [32] Smith, D. P. and McCarty, P. L., “Factors governing methane fluctuations following shock loading of digesters”, Res. J. WPCF, 62(1), 58-64, 1990
- [33] Wu, M. M. and Hickey, R. F., “Dynamic model for UASB reactor including reactor hydraulics, reaction, and diffusion”, J. Env. Eng., 123(3), 244-252, 1997
- [34] Boardman, G. D. and McVeigh, P. J., “Use of UASB technology to treat

- crab processing wastewaters", *J. Env. Eng.*, 123(8), 776-785, 1997
- [35] Sayed, S., van Campen, L. and Lettinga, G., "Anaerobic treatment of slaughterhouse waste using a granular sludge UASB reactor", *Biological Wasters*, 21, 11-28, 1987
- [36] Souza, M. E., "Criteria for the utilization, design and operation of UASB reactors", *Wat. Sci. Tech.*, 18(12), 55-69, 1986
- [37] Yan, Y. G. and Tay, J. H., "Characterisation of the granulation process during UASB start-up", *Wat. Res.*, 31(7), 1573-1580, 1997
- [38] Patel, C., Sastry, V. and Madamwar, D., "Tegoprens in anaerobic digestion of a mixture of cheese whey, poultry waste, and cattle dung for improved biomethanation", *Appl. and Env. Micro.*, 56, 89-93, 1996
- [39] Cecchi, F. and Traverso, P. G., "State of the art of R&D in the anaerobic digestion process of municipal solid waste in europe", *Biomass*, 16, 257-284, 1988
- [40] Speece, R. E., "A survey of municipal anaerobic sludge digesters and diagnostic activity assays", *Wat. Res.*, 22(3), 365-372, 1988
- [41] Speece, R. E., "The role of process configuration in the performance of anaerobic systems", *Proc. 8th international Conf. on Anaerobic digestion*, 1, 1-8, 1996
- [42] Wilkie, A. and Colleran, E., "Start-up of anaerobic filters containing different support materials using pig slurry supernatant", *Biotechnol. Letter*, 6, 735-740, 1984
- [43] Aivasidis, A. and Wandrey, C., "Recent developments in process and reactor design for anaerobic wastewater treatment", *Wat. Sci. Tech.*, 20(1), 211-218, 1988
- [44] Deshusses, M. A., "Transient behavior of biofilters : start-up carbon balances, and interactions between pollutants", *J. Env. Eng.*, 123(6), 563-568, 1997
- [45] Young, J. C. and Yang, B. S., "Design considerations for full-scale anaerobic filters", *J. WPCF*, 61(9), 1989
- [46] Harper, S. R. and Pohland F. G., "Microbial consortia selection in anaerobic filters operated in different reactor configurations", *Proc. 8th International Conf. on Anaerobic Digestion*, 2, 371-382, 1995
- [47] Collins, A., Theis, T. L., Kilambi, S., He, L. and Pavolostathis, S. G., "Anaerobic treatment of low-strength domestic wastewater using an anaerobic

- expanded bed reactor", *J. Env. Eng.*, 7, 652-659, 1998
- [48] Fox, P. and Suidan, M. T., "Batch tests to determine activity distribution and kinetic parameters for acetate utilization in expanded-bed anaerobic reactors", *Applied and Env. Micro.*, 56(4), 887-894, 1990
- [49] Grobicki, A. and Stuckey, D. C., "Performance of the anaerobic baffled reactor under steady-state and shock loading conditions", *Biotechnol. and Bioeng.*, 37, 344-355, 1991
- [50] Fox, P. and Suidan, M. T., "Shock and transient loading on anaerobic reactor coupled with adsorber", *J. Env. Eng.*, 122(1), 18-24, 1996
- [51] Yeh, A. C., Lu, C. and Lin, M. R., "Performance of an anaerobic rotating biological contactor: effects of flow rate and influent organic strength", *Wat. Res.*, 31(6), 1251-1260, 1997
- [52] Maloney, S. W., Engbert, E. G. and Suidan, M. T., " Anaerobic fluidized-bed treatment of propellant wastewater", *Wat. Env. Res.*, 70(1), 52-59, 1998
- [53] Buisman, C. J. and Lettinga, G., "Biotechnological sulphide removal in three polyurethane carrier reactors: stirred reactor, biorotor reactor and upflow reactor", *Wat. Res.*, 24(2), 245-251, 1990
- [54] Jewell, W., Switzenbaum, M. S. and Morris J. W., " Municipal wastewater treatment with the anaerobic attached microbial film expanded bed process", *J. WPCF*, 53(4), 482-490, 1981
- [55] Gorris, L. G. M., van Deursen, J. M. A., van der Drift, C. and Vogels. G. D., "Biofilm development in laboratory methanogenic fluidized bed reactors", *Biotechnol. and Bioeng.*, 33, 687-693, 1989
- [56] ten Brummeler, E., Horbach, H. C. J. M. and Koster, I. W., " Dry anaerobic batch digestion of the organic fraction of municipal solid waste", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 50, 191-209, 1991
- [57] Baek, N. H. and Walker. I., "Studies on the fluidized bed reactor for wastewater treatment", *Hwahak Konghak*, 18(2), 117-127, 1980
- [58] Bhattacharya, S. K., Madura, R. L., Walling, D. A. and Farrell, J. B., "Volatile solids reduction in two-phase and conventional anaerobic sludge digestion", *Wat. Res.*, 30(5), 1041-1048, 1996
- [59] van Lier, J. B., Debets, M. M. W. H. and Lettinga, G., "High rate thermophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized upflow reactors", *Wat. Sci. Tech.*, 30(12), 251-261, 1994

- [60] Cohen, A., Breure, A. M., van Andel, J. G. and van Deursen, A., "Influence of phase separation on the anaerobic digestion of glucose-I maximum COD-turnover rate during continuous operation", *Wat. Res.*, 14, 1439-1448, 1980
- [61] Bull, M. A., Sterritt, R. M. and Lester, J. N., "An evaluation of single-and separated-phase anaerobic industrial wastewater treatment in fluidized bed reactors", *Biotechnol. and Bioeng.*, 26, 1054-1065, 1984
- [62] Pohland F. G., "Phase separation of anaerobic stabilization by kinetic controls", *J. WPCF*, 10, 2204-2222, 1978
- [63] Duran. M. and Speece, R. E., "Staging of anaerobic processes for reduction of chronically high concentrations of propionic acid", *Wat. Env. Res.*, 70(2), 241-248, 1998
- [64] Sarada, R. and Joseph, R., "A comparative study of single and two stage processes for methane production from tomato processing waste", *Process Biochem.*, 31(4), 337-340, 1996
- [65] Ghosh, S., "Pilot-scale demonstration of two-phase anaerobic digestion of activated sludge", *Wat. Sci. Tech.*, 23, 1179-1188, 1991
- [66] Droste, R. L., Guiot, S. R., Gorur, S. S. and Kennedy, K. J., "Treatment of domestic trength wastewater with anaerobic hybrid reactors", *Wat. Poll. Res. J. Canada*, 22(3), 74-490, 1987
- [67] Keenan, P. J., Iza, J. and Switzenbaum, M. S., "Municipal solid waste landfill leachate treatment with a pilot-scale, hybrid upflow anaerobic sludge bed filter reactor, emphasizing inorganic solids development", 46th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings, 773-782, 1992
- [68] Oleszkiewicz J. A. and Thadani, V. J., "Effects of biofilter media on the performance of anaerobic hybrid reactors", *Env. Tech.*, 9, 89-100, 1988
- [69] Guiot, S. R. and van den Berg, L., "Performance of an upflow anaerobic reactor combining a sludge blanket and a filter treating sugar waste", *Biotechnol. and Bioeng.*, 27, 800-806, 1985
- [70] Tay, J. H., Show, K. Y. and Jeyaseelan, S., "Effects of media characteristics on performance of upflow anaerobic packed-bed reactors", *J. Env. Eng.*, 122(6), 469-476, 1996
- [71] Oleszkiewicz, J. A., Hall E. R. and Oziemblo J. Z., "Performance of laboratory anaerobic hybrid reactors with varying depths of media", *Env. Tech.*, 7, 445-452, 1986

- [72] Tur, M. Y. and Huang, J. C., "Treatment of phthalic waste by anaerobic hybrid reactor", *J. Env. Eng.*, 123(11), 1093-1099, 1997
- [73] Kennedy, K. J., Hamoda, M. F., Guiot, S. G., "Anaerobic treatment of leachate using fixed film and sludge bed systems", *J. WPCF*, 60(9), 1675-1683, 1988
- [74] Chang, J. E., "Treatment of landfill leachate with an upflow anaerobic reactor combining a sludge bed and a filter", *Wat. Sci. Tech.*, 21, 133-143, 1989
- [75] Patel, C. and Madamwar, D., "Biomethanation of a mixture of salty cheese whey and poultry waste or cattle dung", *App. Biochem. and Biotechnol.*, 60, 159-166, 1996
- [76] Gossett, J. M. and Belser, R. L., "Anaerobic digestion of waste activated sludge", *National conference on Environmental Engineering, ASCE*, 108, 1101-1120, 1982
- [77] Smith, D. P. and McCarty, P. L., "Energetic and rate effects on methanogenesis of ethanol and propionate in perturbed CSTRs", *Biotechnol. and Bioeng.*, 34, 39-54, 1989
- [78] Ince, O., Anderson, G. K. and Kasapgil, B., "Composition of the microbial population in a membrane anaerobic reactor system during start-up", *Wat. Res.*, 31(1), 1-10, 1997
- [79] Lo, K. V., Liao, P. H. and Gao, Y. C., "Anaerobic treatment of swine wastewater using hybrid UASB reactors", *Bioresource Tech.*, 47, 153-157, 1994
- [80] Lay J. J. and Cheng, S. S., "Influence of hydraulic loading rate on UASB reactor treating phenolic wastewater", *J. Env. Eng.*, 124(9), 829-837, 1998
- [81] Guiot, R. S., Arcand, Y. and Chavarie, C., "Advantages of fluidization on granule size and activity development in upflow anaerobic sludge bed reactors", *Wat. Sci. Tech.*, 26(3), 897-906, 1992
- [82] Fang, H. H. P., "Microbial distribution and syntrophic association in UASB granules", *Proc. 8th International Conf. on Anaerobic Digestion*, 1, 1995
- [83] Fang, H. H. P., Guohua L., Jinfu Z., Bute, C. and Guowei Gu., "Treatment of brewery effluent by UASB process", *J. Env. Eng.*, 116(3), 454-460, 1990
- [84] Fang, H. H. P., Liu, Y. and Chen, T., "Effect of sulfate on anaerobic degradation of benzoate in UASB reactors", *J. Env. Eng.*, 123(4), 320-328,

1997

- [85] Wiegant, W. M., Hennink, M. and Lettinga, G., "Separation of the propionate degradation to improve the efficiency of thermophilic anaerobic treatment of acidified wastewaters", *Wat. Res.*, 20(4), 517-524, 1986
- [86] Fang, H. H. P., Chui, H. K., "Maximum COD loading capacity in UASB reactors at 37°C", *J. Env. Eng.*, 119(1), 103-119, 1991
- [87] Morgan, J. W., Evison L. M. and Forster, C. F., "The internal architecture of anaerobic sludge granules", *J. Chem. Tech. Biotech.*, 50, 211-226, 1991
- [88] Vieira S. M. M. and Souza M. E., "Development of technology for the use of the UASB reactor in domestic sewage treatment", *Wat. Sci. Tech.*, 18(12), 109-121, 1986
- [89] Pol, L. H. and Lettinga, G., "New technologies for anaerobic wastewater treatment", *Wat. Sci. Tech.*, 18(12), 41-53, 1986
- [90] Dolfing, J., "Granulation in UASB reactors", *Wat. Sci. Tech.*, 18(12), 15-25, 1986
- [91] Fang, H. H. P., and Li, Y. Y. and Chui, H. K., "UASB treatment of wastewater with concentrated mixed VFA", *J. Env. Eng.*, 121(2), 153-160, 1995
- [92] Hendriksen H. V. and Ahring, B. K., "Combined removal of nitrate and carbon in granular sludge: Substrate competition and activities", *Antonie van Leeuwenhoek*, 69, 33-39, 1996
- [93] Yan, Y. G. and Tay, J. H., "Brewery wastewater treatment in UASB reactor at ambient temperature", *J. Env. Eng.*, 122(6), 550-553, 1996
- [94] Fang, H. H. P., Chen, T. and Chui H. K., "Degradation of phenol in wastewater in an UASB reactor", *Wat. Res.*, 30(6), 1353-1360, 1996
- [95] Guiot, S. R., Pauss, A. and Costerton, J. W., "A structured model of the anaerobic granule consortium", *Wat. Sci. Tech.*, 25(7), 1-10, 1992
- [96] Guiot, S. R., MacLeod, A. and Pauss, A., "Thermodynamical and microbiological evidence of trophic microniches for propionate degradation in a methanogenic sludge-bed reactor", *Micro. and Biochem. of Strict Anaerobes Involved in Interspecies Transfer*, 173-183, 1990
- [97] Shin H. S. and Paik, B. C., "Improved performance of upflow anaerobic sludge blanket(UASB) reactors by operation alternatives", *Biotech.*, 12(6), 469-474, 1990



- [98] Fang, H. H. P., Li, Y. Y. and Chui, H. K., "Performance and sludge characteristics of UASB process treating propionate-rich wastewater", *Wat. Res.*, 29(3), 895-898, 1995
- [99] Ei-Momouni, R., Rouleau, D. and Mayer, R., "Comparison of the novel multiplate anaerobic reactor with the upflow anaerobic sludge blanket reactor", *Purdue Industrial Waste Conference Proceedings*, 681-687, 1992
- [100] Harada, H., Uemura, S., Chen A. C. and Jayadevan, J., "Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor", *Bioresource Tech.*, 55, 215-221, 1996
- [101] Kennes, C., and Mendez, R. and Lema, J. M., "Methanogenic degradation of *p*-cresol in batch and in continuous UASB reactors", *Wat. Res.*, 31(7), 1549-1554, 1997
- [102] Tay, J. H. and Yan, Y. G., "Anaerobic biogranulation as microbial response to substrate adequacy", *J. Env. Eng.*, 123(10), 1002-1010, 1997
- [103] Bhatti, Z. I., Furukawa, K. and Fujita, M., "Feasibility of methanolic waste treatment in UASB reactors", *Wat. Res.*, 30(11), 2559-2568, 1996
- [104] Ginter, M. O. and Grobicki, A. M., "Manganese removal mechanisms in a stirred UASB reactor", *Wat. Res.*, 31(6), 1261-1268, 1997
- [105] Thiele, J. H., Chartrain, M. and Goegory, J., "Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: role of floc formation in syntrophic methanogenesis", *Applied and Env. Micro.*, 54(1), 10-19, 1988
- [106] Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M. and Nagai, S., "Inhibition of the fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate, and propionate", *Appl. and Env. Micro.*, 56(3), 719-723, 1990
- [107] Fang, H. H. P. and Chan O. C., "Toxicity of phenol towards anaerobic biogranules", *Wat. Res.*, 31(9) 2229-2242, 1997
- [108] Kim, I. S., Young, J. C. and Tabak, H. H., "Impact of chloroanilines on hydrogenotrophic methanogenesis in ethanol-enriched cultures", *Wat. Res.*, 30(3), 601-612, 1996
- [109] Guiot, S. R., Frigon, J. C., Darrah, B., Landry, M. F. and Macarie, H., "Coupled aerobic and anaerobic treatment of toxic wastewater", *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 58, 1761-1769, 1993
- [108] Gupta, A., Flora, J. R. V., Gupta, M. and Sayles, G. D., "Methanogenesis and sulfate reduction in chemostats-I. kinetic studies and experiments", *Wat. Res.*, 28(4), 781-793, 1994

- [109] Parkin, G. F., Lynch, N. A., Kuo, W. C., Van Keuren, E. L. and Bhattacharya, S. K., "Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate", *Res. J. WPCF*, 62(6), 780-787, 1990
- [110] Mata-Alvarez, J., Hecchi, J., Pavan, P. and Llavres, P., "The performances of digesters treating the organic fraction of municipal solid wastes differently sorted", *Biological Wastes*, 33, 181-199, 1990
- [111] Young, H. W. and Young, J. C., "Hydraulic characteristics of upflow anaerobic filters", *J. Env. Eng.*, 114(3), 621-633, 1988
83. Srinikethan, G., Prabhakar, A. and Varma, Y. B. G., "Axial dispersion in plate-pulsed columns", *Bioprocess Eng2.*, 161-168, 1987
- [112] Breitenbucher, K., Siegl, M., Knupfer A. and Radke, M., "Open-pore sintered glass as a high-efficiency support medium in bioreactors: new results as long-term experiences achieved in high-rate anaerobic digestion", *Wat. Sci. Tech.*, 22, 25-32, 1990
- [113] Townsend, T. G., Miller, W. L., Lee, H. J. and Earle, J. F. K., "Acceleration of landfill stabilization using leachate recycle", *J. Env. Eng.*, 122(4), 263-268, 1996
- [114] Pohland, F., Harper, S. R., Chang, K. C., Dertlen, J. T. and Chian E. S. K., "Leachate generation and control at landfill disposal sites", *Wat. Poll. Res.*, 20(3), 10-24, 1985
- [115] Gupta, M., Sharma, D., Suidan, M. T. and Sayles, G. D., "Biotransformation rates of chloroform under anaerobic conditions- I. methanogenesis", *Wat. Res.*, 30(6), 1377-1385, 1996
- [116] Anderson, J. E. and McCarty, P. L., "Model for treatment of trichloroethylene by methanotrophic biofilms", *J. Env. Eng.*, 120(2), 379-400, 1994
- [117] Gupta, M., Sharma, D., Suidan, M. T. and Sayles, G. D., "Biotransformation rates of chloroform under anaerobic conditions- II. sulfate reduction", *Wat. Res.*, 30(6), 1387-1394, 1996
- [118] Veiga, M. C., Soto, M., Mendez, R. and Lema, J. M., "A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters", *Wat. Res.*, 24(12), 1551-1554, 1990
- [119] Switzenbaum, M. S. and Hickey, R. F., "Monitoring of the anaerobic methane fermentation process", *Enzyme Microb. Tech.*, 12, 722-730, 1990
- [120] Mendez, R., Lema, J. M., Forjan, C., "Characterization, digestibility and

- anaerobic treatment of leachates from old and young landfills", *Wat. Sci. Tech.*, 21, 145-155, 1989
- [121] Weiland, P., "Development of anaerobic filters for treatment of high strength agro-industrial wastewaters", *Bioprocess Eng2.*, 39-47, 1987
- [122] Kwong, T. S. and Fang, H. H. P., " Anaerobic degradation of cornstarch in wastewater in two upflow reactors", *J. Env. Eng.*, 122(1), 9-17, 1996
- [123] Howerton, D. E. and Young J. C., "Two-stage cyclic operation of anaerobic filters", *J. WPCF*, 59(8), 788-794, 1987
- [124] Campos, J. R., Foresti, E. and Camacho, R. D. P., "Anaerobic wastewater treatment in the food processing industry : two case studies", *Wat. Sci. Tech.*, 18(12), 87-97, 1986
- [125] DeWalle, F. B. and Chian, E. S. K., "Kinetics of substrate removal in a completely mixed anaerobic filter", *Biotechnol. and Bioeng.*, 18, 1275-1295, 1976
- [126] Guiot, S. R., Rocheleau, S., Hawari J. and Samson, R., "Induction of granulation by sulphonated-lignin and calcium in an upflow anaerobic sludge bed reactor", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 53, 45-56, 1992
- [127] Malina, J. F., The Effect of Temperature on High Rate Digestion of Activated Sludge, *Proc. 16 Ind. Waste Conf.*, May (1961)
- [128] Polprasert, C., *Organic waste recycling*, Wiley, Chichester, U. K., (1989)
- [129] McCarty P. L. & McKinney R. E. Salt toxicity in anaerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 33, pp. 399-415 (1961)
- [130] McCarty, P. L., "Anaerobic waste treatment fundamentals: I. Chemistry and micro biology ; II. Environmental requirements and control; III. Toxic materials and their control ; IV. Process Design", *Public Work*, Nos. pp. 9-12, Sept. -Dec., (1964)
- [131] Andrew G. Hashimoto. "Ammonia inhibition of Methanogenesis from Cattle wastes", *Agri. Wastes*, 17, pp. 241-261 (1986)
- [132] Koster, I. W. "Microbial, chemical and technological aspects of the anaerobic degradation of organic pollutants"; *Biotreatment Systems*, 1, D. L. Wise, Ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 1. pp. 285-316. (1988)
- [133] Gujer, W. and Zehnder, A. J. B., " Conversion Process in Anaerobic Digestion" *Wat. Sci. & Tech.*, 15, pp. 127-167, (1983)
- [134] Eastman, J. A. and Ferguson, J. F., "Solubilization of Particulate Organic Carbon During the Acid Phase of Anaerobic Digestion" *J. WPCF.*, 53, pp.

352-366, (1981)

[135] Noike, T., et al., "Characteristic of Carbohydrate Degradation and Rate Limiting Step in Anaerobic Digestion " *Biotech. Bioeng.*, 27, pp. 1482-1489, (1985)

[136] McCarty, P. L., In : *Anaerobic Digestion 1981*, Hughes, D. et al.(ed), (1982)

[137] Speece, R. E., "Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment", *Env. Sci. Tech.*, 17(9), pp. 416-427, (1983)

[138] Speece, R. E., "Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters", *Vanderbilt Univ.*(1996)

[139] Mogens Henze and Poul Harremoës. "Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film ReactorsA Literature Review", *Wat. Sci. Tech.*, 15, pp. 1-101, (1983)

[140] James C. Y. "Aerobic and anaerobic respirometry for bioassays and treatability testing", *Univ Park, PA 16802*, (1992)

[141] Fair, G. W., and E. W. Moore, "Time and Rate of Sludge Digestion and Their Variation with Temperature", *Sewage Works.*, 6, pp. 3-13, (1934)

[142] Heinrichs, D. M., Poggi-Varaldo, H. M. and Oleszkiewicz, J. A., "Effect of ammonia on anaerobic digestion of simple organic substrate", *ASCE*, 3(11), (1991)

[143] A. F. M. VAN VELSEN, "Adaptation of Methanogenic sludge to high Ammonia-nitrogen concentrations", *Water Research*, 13, pp. 995-999, (1979)

[144] APHA, *Standard methods of the examination of water and wastewater*, 18th edn, American Public Health Association, Washington, DC., (1992)

[145] W. F. Owen, D. C. Stuckey, J. B. Healy, JR., L. Y. Young and P. L. McCarty, "Bioassay for monitoring Biochemical methane potential and anaerobic toxicity", *Water Research*, 13(3), pp. 485-492, (1979)

[146] Harper, S. R. and Pohland, F. G., "Enhancement of anaerobic treatment efficiency through process modification", *J. WPCF*, 59 (3), 152-161, 1987

[147] Fox, P. and Pohland, F. G., "Anaerobic treatment applications and fundamentals : substrate specificity during phase separation", *Wat. Env. Res.*, 66, 716-724, 1994.

[148] McCarty, P. L. and Smith, D. P., "Anaerobic wastewater treatment", *Env. Sci. Tech.*, 20 (12), 1200-1206, 1986

[149] Novaes, R. F. V., "Microbiology of anaerobic wastewater treatment",

Env. Sci. Tech., 18 (12), 1-14, 1986

[150] Zehnder, A. J. B., "Ecology of methane formation", *Wat. Poll. Micro.*, 2, 349-376, 1978

[151] Koster, L. W. and Lettinga, G., "Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations", *Bio. Waste.*, 25, 51-59, 1988

[152] Kuttig, U. and Brauer, H., "Mehrstufige anaerobe Abwasserreinigung mit integrierter Auskristallisation von Ammonium", VDI-Verlag GmbH, Berlin, Germany, 1992

[153] Song, K. H. and Young, J. C., "Media design factors for fixed-bed filters", *J. WPCF*, 58 (2), 115-121, 1986

[154] Bonastre, N. and Paris, J. M., "Survey of laboratory, pilot and industrial anaerobic filter installations", *Process Biochem.*, Feb., 1989

[155] Ghosh, S. and Klass, D. L., "Two-phase anaerobic digestion", *Proc. Biochem.*, 15, p. 2, 1978

[156] Anderson, G. K., Kasapgil, B. and Ince, O., "Microbiological study of two stage anaerobic digestion start-up", *Wat. Res.*, 28, 2383-2392, 1994

[157] Van den Berg, L. and Lentz, C. P., "Comparison between up- and down-flow anaerobic fixed film reactors of varying surface-to-volume ratios for the treatment of bean blanching waste", *Proc.*, 34th Industrial Waste Conf., Purdue Univ., 319-325, 1979

[158] Hensen, K. H., Angelidaki, I. and Ahring, B. K., "Anaerobic digestion of swine manure : inhibition by ammonia", *Wat. Res.*, 32(1), 5-12, 1998

[159] Sam-Soon, P., Loewenthal, R. and Wentzel, M., "Effect of nitrogen limitation on pelletisation in upflow anaerobic sludge bed(UASB) systems", *Water SA*, 16(3), 165-170, 1990

[160] Cayless, S. M. and Lester, J. N., "The effect of transient loading, pH and temperature shocks on anaerobic filters and fluidised beds", *Enviro. Technol.*, 10, 951-968, 1989

[161] Daid, A. S., Dannis, H. and Rex, H., "Methane production from waste organic matter", CRC Press, Florida, 1980

[162] Archer, D. B. and Krisop, B. H., "The microbiology and control of anaerobic digestion", *A Waste Treatment Tech.*, A Wheatly, Ed. Elsevier Applied Science, London, U. K., 43-91, 1991

[163] Lawrence, A. W. and McCarty, P. L., "Kinetics of methane fermentation in anaerobic treatment", *J. Water Pollut. Control Fed.*, 41,

R1-R17, 1969

[164] Sterrit, R. M. and Lester, J. N., "Microbiology for Environmental and Public Health. Engineers". E. & F. N. Spon, London, 1988

[165] Sahn, H., "Anaerobic wastewater treatment", Adv. Biochem. Eng. Biotech., 29, 84-115, 1984

[166] Bhattacharya, S. K. and Parkin, G. F., "The effect of ammonia on methane fermentation processes, JWPCF., 61(1), 543-548, 1984

[167] Schulze-Rettmer, R., "The Simultaneous chemical precipitation of ammonium and phosphate in the form of magnesium-ammonium-phosphate", Wat. Sci. Tech., 23, 1991

[168] Joseph B., "Phosphate deposits in digestion systems", JWPCF, 44(5), 1972

[169] Harper, S. R. and Pohland, F. G., "Enhancement of anaerobic treatment efficiency through process modification", J. WPCF, 59 (3), 152-161, 19

[170] 최경민, 양재경, 박응로, 방극수, 이성택. 1997. 양돈 폐수 처리를 위한 *Rhodospirillum rubrum* N-1의 분리 및 특성 연구, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 25, No. 3, 322-327

[180] 김연옥. 1998. 혐기성 회분식 배양에서 양돈 폐수의 NH<sub>4</sub>-Nitrogen이 혐기성 미생물에 미치는 영향, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 26, No. 2, 173-178

[181] 박춘호, 김용기, 유희중, 오평수. 1991. 유지 폐수의 생물학적 처리에 관한 연구, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 19, No. 1, 88-93

[182] 이석준, 김성빈, 김희식, 권기석, 윤병대, 오희목. 1999. 축산 폐수의 고도 처리 및 지질 생산을 위한 *Botryococcus braunii*의 대량 배양, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 27, No. 2, 166-171

[183] Shwlef. G. and C. J. Soeder. 1980. Algal Biomass: Production and Use, Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.

[184] Van Os, E. A. 1994. Closed growing systems for more efficient and environmental friendly production. Acta Horticulturae(in press).

[185] Chevalier, P. and J. de la NoUe. 1985. Effet of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and ort hophosphate removal from wastewater. Biotechnol. Lett. 7:395-400

[186] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 292-297.

- [187] D'Elia, C. F., P. A. Steudler, and N. Corwin. 1977. Determination of total nitrogen in aqueous samples using persulfate digestion. *Limnol. Oceanogr.* 22: 760-764.
- [188] Guterstam, B. and J. Todd. 1990. Ecological engineering for wastewater treatment and its application in new England and Sweden. *Ambio* 19: 173-175.
- [189] Aziz, M. A. and W. J. Ng. 1993. Industrial wastewater treatment using an activated algae-reactor. *Water Sci. Technol.* 28: 71-76.
- [190] De la Noue, J. and A. Basseres. 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae. *Biological Wastes* 29: 17-31.
- [200] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 292-297.
- [201] Hu, Q., Westerhoff, P. and Vermaas W. 2000. Removal of nitrate from groundwater by cyanobacteria: Quantitative assessment of factors influencing nitrate uptake. *Appl. environ. Microbiol.* 66(1): 133-139.
- [202] Nora, F. Y. T. and W. Y. Shan. 1994. Feasibility of using *Chlorella pyrenoidosa* in the removal of inorganic nutrients from primary settled sewage, pp. 291-299. In S. M. Phang (ed.), *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*, Institute of Advanced Studies, University of Malaya.
- [203] 小林達治. 1978. 化學微生物. pp 8-6042.
- [204] Kobayshi, M. and Y. T. Tchan. 1973. Treatment of industrial waste solution and production of useful by-products using a photosynthetic bacteria method. *Water Res.*, 7: 1219-1224.
- [205] American Type Culture Collection. *Catalogue of Bacteria and Phages*, pages 363, 438. 18th edition, 1992.
- [206] Ahlgren, G. 1988. Phosphorus as growth-regulating factor relative to other environmental factors in cultured algae. *Hydrobiologia* 170:191-210.
- [207] Herrero, A., and E. Flores. 1997. Nitrate metabolism, p. 1-33. In A. K. Rai(ed.), *Cyanobacterial nitrogen metabolism and enviromental biotechnology*. Narosa P publishing House, New Delhi, India.
- [208] Bohumil Volesky, *Biosorption of Hevay Metals*(Montreal : CRC Press, 1990). p. 177
- [209] Ronald Atlas, Richard Bartha, *Microbial Ecology* (London:Benjamin /Cummings Publishing Co. Inc., 1995). pp. 232~233.
- [210] Gordon, D. M., P. B. Birdh, and A. J. McComb. 1981. Effects of

inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of and Estuarine *Cladophora* in culture. *Bot. Mar.* 24: 93-106.

[211] Walter, M. R. J. Bauld, D. J. Des Marais and J. W. Schopf (1992) A general comparison of microbial mats and microbial stromatolites bridging the gap between the modern and the fossil. In *The Proterozoic Biosphere* (Edited by J. W. Schopf and C. Klein). PP. 335-338. University Press, Cambridge.

[212] Fay, P. (1992) Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiol. Rev.* 56, 340-373.

[213] Tandeau de Marsac, N. and J. Houmard (1993) Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 104, 119-190.

[214] Sinha, R. P. and A. Kumar (1992) Screening of blue-green algae for biofertilizer. In *Proceedings of the National Seminar on Organic Farming* (Edited by P. S. Patil), pp. 95-97. Pune, India.

[215] Banerjee, M. and H. D. Kumar (1992) Nitrogen fixation by *Aulosira fertilissima* in rice fields. *Naturalia* 17, 51-58.

[216] Büdel, B. and D. C. J. Wessels (1991) Rock inhabiting blue-green algae/cyanobacteria from hot arid regions. *Algol. Stud.* 64, 385-398.

[217] Lange, O. L., G. J. Kidron, B. Büdel, A. Meyer, E. Kilian and A. Abeliovich (1992) Taxonomic composition and photosynthetic characteristics of the 'biological soil crusts' covering sands dunes in the western Negev Desert. *Funct. Ecol.* 6, 519-527.

[218] Johansen, J. R. (1993) Cryptogamic crusts of semiarid and arid lands of North America. *J. Phycol.* 29, 140-147.

[219] Whitton, B. A. (1992) Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In *Photosynthetic Prokaryotes* (Edited by N. H. Mann and N. G. Carr), pp. 1-51. Plenum Press, New York.

[220] Stal, L. J. (1995) Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. *New Phytol.* 131, 1-32.

[221] Dodds, W. K., D. A. Gudder and D. Mollenhauer (1995) The ecology of *Nostoc*. *J. Phycol.* 31, 2-18.

[222] Rai, A. N. (1990) Cyanobacteria in symbiosis. In *Handbook of symbiotic Cyanobacteria* (Edited by A. N. Rai), pp. 1-7. CRC Press, Boca Raton, FL.

[223] Peter, G. A. (1991) *Azolla* and other plant-cyanobacteria symbioses: aspects of form and function. *Plant Soil* 137, 25-36.



- [224] Lindblad, P., A. Atkins and J. S. Pate(1991) N<sub>2</sub> - fixation by freshly isolated Nostoc from coralloid roots of the cycad *Macrozamia riedlei* (Fisch. ex Gaud.) Gardn. Plant Physiol. 95. 753-759.
- [225] Bergman., B. C. Johansson and E. Soderback(1992) The Nostoc - *Gunnera* symbiosis. New Phytol. 122. 379 - 400.
- [226] Gantar, M., N. W. Kerby and P. Rowell(1991) Colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) by N<sub>2</sub> - fixing cyanobacteria: II An ultrastructural study. New Phytol. 118. 485 - 492.
- [227] Haselkorn, R.(1992) Developmentally regulated gene rearrangements in prokaryotes. Annu. Rev. Genet 26. 111 - 128.
- [228] Wolk, C. P., A. Earnst and J. Elhai (1994) Heterocyst metabolism and development. In *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (Edited by D. A. Bryant). pp. 769-823. Kluwer Academic, Dorrecht.
- [229] Georgiadis, M. M., H. Komiya. P. Chakrabarti, D. Woo. J. J. Kornuc and D. C. Rees (1992) Crystallographic structure of the nitrogenase iron protein from *Azotobacter vinelandii* Science 257, 1657 - 1659.
- [230] Kim, J. and D. C. Rees (1992) Structural models for the metal centers in the nitrogenase molybdenum-iron protein. Science 257, 1677 - 1682.
- [231] Gordon, D. M., P. B. Birch, and A. J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of an Estuarine *Cladophora* in culture. Bot. Mar. 24: 93-106.
- [232] Thiel, T.(1993) Characterization of genes for an alternative nitrogenase in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. J. Bacteriol. 175, 6276 - 6286.
- [233] Storch, T. A., G. W. Saunders and M. L. Ostrofsky(1990) Diel nitrogen fixation by cyanobacterial surface blooms in Sanctuary Lake, Pennsylvania. Appl. Environ. Microbiol. 56, 466 - 471.
- [234] Gallin, J. R., M. A. Hashem and A, E, Chaplin(1991) Nitrogen fixation by *Oscillatoria* spp. under autotrophic and photoheterotrophic conditions. J. Gen. Microbiol, 137, 31 - 39.
- [235] Janson, S., E. J. Carpenter and B. Bergman(1994) Compartmentalisation of nitrogenase in a non-heterocystous cyanobacterium: *Trichodesmium contortum*. FEMS Microbiol, LETT. 118, 9 - 14.
- [236] Sinha, R. P. and D. P. Hader(1996) Response of a rice field cyanobacterium *Anabaena* sp. to physiological stressors. Environ. Exp. Bot. 36, 147 - 155.

- [237] Subramanian, G. and S. Shanmugasundaram(1986) Uninduced ammonia release by the nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena*. *FEMS Microbiol. Lett.* 37, 151 - 154.
- [238] Ladha, J. K., A. T. Padre, G. C. Punzalan and I. Watanabe (1987) Nitrogen-fixing (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-reducing) activity and plant growth characters of 16 wetland rice varieties. *Soil Sci. Plant Nutr.* 33. 187-200.
- [239] Donkor, V. and D.-P. Häder (1993) Effects of tropical solar radiation on the motility, photomovement and pigmentation in filamentous, gliding cyanobacteria. *FEMS Microbiol.Ecol.* 86, 159-168.
- [240] Donkor, V. D., H. A. K. Amewowor and D.-P. Häder (1993) Effects of tropical solar radiation on the *rw* Castenholz motility of filamentous cyanobacteria, *FEMS Microbiol.Ecol.* 12, 143-148
- [241] Sinha, R. P., H. D. A. K. Ammewowor and D.-P. Häder (1995) Effect of UV-B irradiation solar growth, survival, pigmentation and nitrogen metabolism enzyme in cyanobacteria, *Acta Protozool.* 34, 187-192.
- [242] Vincent, W. F. and S. Roy (1993) Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection, and recovery. *Environ .Rev.* 1, 1-12.
- [243] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kmamr and D.-P. Häder (1996) Impacts of ultraviolet-B irradiation on nitrogen-fixing cyanobacteria of rice paddy fields. *J. Plant Physiol.* 32, 107-113.
- [244] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar and D.-P. Häder (1995) Disintegration of phycobilisomes in a rice field cyanovacterium *Nostoc* sp. following UV irradiation. *.Biochem. Mol. Biol Int.* 37, 697-706.
- [245] Häder, D.-P. and R. C. Worrest (1991) Effects of enhanced solar-ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Photochem. Photobiol.* 53, 717-725.
- [246] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar Anand Häder (1995) Spectroscopic and biochemical analyses on phycobiliproteins of *Abaena* sp. and *Nnostoc carmium*. *Bot. Acta* 180. 87-92.
- [247] Grossman A. R., M. R. Schaefer, G. G. Ching and J. L. Collier (1993) Phycobilisome, a light harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* 57, 725-749.
- [248] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kumar, M. Häder and D.-P. Häder (1996) Effects of UV irradiation on certain physiological and biochemical

- processes in cyanovacteria. *J. Photochem Photobiol B Biol.* 32, 107-114.
- [249] Blakefield, M. K. and D. O. Harries (1994) Delay of cell differentiation in *Anabaena aequalis* cause by UV-B radiation and the role of photoreactivation and excision repair. *Photochem. Photobiol.* 59, 204-208.
- [250] Kumar, A., R. P. Sinha and D.-P. Hader (1996) Effect of U-B on enzymes of nitrogen metabolism in the cyanobacterium *Nostoc calcicola*. *J. Plant Physiol.* 148, 86-91.
- [251] Reynolds C.S., R. L. Oliver and, A. E. Waslsby (1987) Cyanobacteria dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *N. Z. J. Mar Freshwater Res.* 21, 379-390.
- [252] Garcia-Pichel, F. and R. W. Castenholz (1991) Characterization and biological implication of scytonemin a cyanobacterial sheath pigment. *J Phycol.* 27, 395-409.
- [253] Garcia- Pichel F, C. E. Wingard and R. W. Castenholz (1993) Evidence regarding the UV sunscreen role of a mycosporin-like compounds in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp *Appl. Environ Microbiol.* 59, 170-176.
- [254] Weiner, D. (1992) Cyanobacteria symbioses(except lichen). In *symbiosis of plants and microbes*(Edited by D werner), pp. 220-247. Chapman and Hall, London.
- [255] Beardsell, D.V., D.G. Nicholas (1982) *Scientia Horticulturae*, 17, pp.49-59.
- Berkowitz, N. (1964) *Engineering Journal*, 47, pp.16-29.
- [256] Choudry, G.G. (1983) "Humic Substances", Gordon and Breach Science Publication.
- [257] Pang, L.S.K., A.M. Vassallo, and M.A. Wilson (1990) *Organic Geochemistry*, 16, pp.853-864.
- [258] Patti, A.F., R. Levi-Minzi, R. Riffaldi, and G. Guidii (1988) *Proceedings of Science, Technology and Utilization of Humic Acid Seminar*, Sydney, pp.6-105.
- [260] Tan, K.H., and A.Binger (1986) *Soil Science*, 141, pp.20-25.
- [261] Kurtiz, T., A. Ernst, T. A. Black and C. P. Wolk(1993) High-resolution mapping of genetic loci of *Anabaena* PCC 7120 required for photosynthesis and nitrogen fixation. *Mol. Microbiol.* 8, 101 - 110.
- [262] 최경민, 양재경, 박응로, 방극수, 이성택. 1997. 양돈 폐수 처리를 위한 *Rhodospirillum rubrum* N-1의 분리 및 특성 연구, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 25, No. 3, 322-327

- [263] 김연옥. 1998. 혐기성 회분식 배양에서 양돈 폐수의 NH<sub>4</sub>-Nitrogen이 혐기성 미생물에 미치는 영향, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 26, No. 2, 173-178
- [264] 박춘호, 김용기, 유희중, 오평수. 1991. 유지 폐수의 생물학적 처리에 관한 연구, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 19, No. 1, 88-93
- [265] 이석준, 김성빈, 김희식, 권기석, 윤병대, 오희목. 1999. 축산 폐수의 고도 처리 및 지질 생산을 위한 *Botryococcus braunii*의 대량 배양, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 27, No. 2, 166-171
- [266] Shwlef. G. and C. J. Soeder. 1980. Algal Biomass: Production and Use, Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [267] Van Os, E. A. 1994. Closed growing systems for more efficient and environmental friendly production. Acta Horticulturae(in press).
- [268] Chevalier, P. and J. de la NoUe. 1985. Effet of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and ort hophosphate removal from wastewater. Biotechnol. Lett. 7:395-400
- [269] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized Phormidium. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 292-297.
- [270] D'Elia, C. F., P. A. Steudler, and N. Corwin. 1977. Determination of total nitrogen in aqueous samples using persulfate digestion. Limnol. Oceanogr. 22: 760-764.
- [271] Guterstam, B. and J. Todd. 1990. Ecological engineering for wastewater treatment and its application in new England and Sweden. Ambio 19: 173-175.
- [272] Aziz, M. A. and W. J. Ng. 1993. Industrial wasterwater treatment using an activated algae-reactor. Water Sci. Technol. 28: 71-76.
- [273] De la Noue, J. and A. Basseres. 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with miroalgae. Biological Wastes 29: 17-31.
- [274] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized Phormidium. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 292-297.
- [275] Hu, Q., Westerhoff, P. and Vermaas W. 2000. Removal of nitrate from groundwater by cyanobacteria: Quantitative assessment of factors influencing nitrate uptake. Appl. environ. Microbiol. 66(1): 133-139.
- [276] Nora, F. Y. T. and W. Y. Shan. 1994. Feasibility of using *Chlorella pyrenoidosa* in the removal of inorganic nutrients from primary settled

- sewage, pp. 291-299. In S. M. Phang (ed.), *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*, Institute of Advanced Studies, University of Malaya.
- [277] 小林達治. 1978. 化學微生物. pp 8-6042.
- [278] Kobayshi, M. and Y. T. Tchan. 1973. Treatment of industrial waste solution and production of useful by-products using a photosynthetic bacteria method. *Water Res.*, 7: 1219-1224.
- [279] American Type Culture Collection. *Catalogue of Bacteria and Phages*, pages 363, 438. 18th edition, 1992.
- [280] Ahlgren, G. 1988. Phosphorus as growth-regulating factor relative to other environmental factors in cultured algae. *Hydrobiologia* 170:191-210.
- [281] Herrero, A., and E. Flores. 1997. Nitrate metabolism, p. 1-33. In A. K. Rai(ed.), *Cyanobacterial nitrogen metabolism and enviromental biotechnology*. Narosa P publishing House, New Delhi, India.
- [282] Bohumil Volesky, *Biosorption of Hevay Metals*(Montreal : CRC Press, 1990). p. 177
- [283] Gordon, D. M., P. B. Birdh, and A. J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of and Estuarine *Cladophora* in culture. *Bot. Mar.* 24: 93-106.
- [284] Walter. M. R. J. Bauld. D. J. Des Marais and J. W. Schopf (1992) A general comparison of microbial mats and microbial strimatolites bridging the gap between the modem and the fossil. In *The Proterozoic Biosphere* (Edited by J. W. Schopf and C. Klein). PP. 335-338. University Press. Cambridge.
- [285] Fay. P. (1992) Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiol. Rev.* 56, 340-373.
- [286] Tandeau de Marsac. N. and J. Houmard (1993) Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 104, 119-190.
- [287] Sinha, R. P. and A. Kumar (1992) Screening of blue-green algae for biofertilizer. In *Proceedings of the National Seminar on Organic Farming* (Editde by P. S. Patil), pp. 95-97. Pune. India.
- [288] Banerjee, M. and H. D Kumar (1992) Nitrogen fixation by *Aulosira fertilissima* in rice fields. *Naturalia* 17, 51-58.
- [289] Büdel, B. and D. C. J. Wessels (1991) Rock inhabiting blue-green algae/cyanobacteria from hot arid regions. *Algol. Stud.* 64, 385-398.
- [290] Lange, O. L., G. J. Kidron, B. Büdel, A. Meyer, E. Kilian and A.

- Abeliovich (1992) Taxonomic composition and photosynthetic characteristics of the 'biological soil crusts' covering sands dunes in the western Negev Desert. *Funct. Ecol.* 6. 519-527.
- [291] Johansen, J. R. (1993) Cryptogamic crusts of semiarid and arid lands of North America. *J. Phycol.* 29. 140-147.
- [292] Whitton, B. A. (1992) Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In *Photosynthetic Prokaryotes* (Edited by N. H. Mann and N. G. Carr), pp. 1-51. Plenum Press, New York.
- [293] Stal, L. J. (1995) Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. *New Phytol.* 131.1-32.
- [294] Dodds, W. K., D. A. Gudder and D. Mollenhauer (1995) The ecology of *Nostoc*. *J. Phycol.* 31, 2-18.
- [295] Rai, A. N. (1990) Cyanobacteria in symbiosis. In *Handbook of symbiotic Cyanobacteria* (Edited by A. N. Rai), pp. 1-7. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [296] Peter. G. A (1991) *Azolla* and other plant-cyanobacteria symbioses: aspects of form and function. *Plant Soil* 137, 25-36.
- [297] Lindblad. P., A. Atkins and J. S. Pate (1991)  $N_2$  - fixation by freshly isolated *Nostoc* from coralloid roots of the cycad *Macrozamia riedlei* (Fisch. ex Gaud.) *Gardn. Plant Physiol.* 95. 753-759.
- [298] Bergman., B. C. Johansson and E. Soderback (1992) The *Nostoc* - *Gunnera* symbiosis. *New Phytol.* 122. 379 - 400.
- [299] Gantar, M., N. W. Kerby and P. Rowell (1991) Colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) by  $N_2$  - fixing cyanobacteria: II An ultrastructural study. *New Phytol.* 118. 485 - 492.
- [300] Haselkorn, R. (1992) Developmentally regulated gene rearrangements in prokaryotes. *Annu. Rev. Genet.* 26. 111 - 128.
- [301] Wolk, C. P., A. Earnst and J. Elhai (1994) Heterocyst metabolism and development. In *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (Edited by D. A. Bryant). pp. 769-823. Kluwer Academic, Dordrecht.
- [302] Georgiadis, M. M., H. Komiya. P. Chakrabarti, D. Woo. J. J. Kornuc and D. C. Rees (1992) Crystallographic structure of the nitrogenase iron protein from *Azotobacter vinelandii* *Science* 257, 1657 - 1659.
- [303] Kim, J. and D. C. Rees (1992) Structural models for the metal centers in the nitrogenase molybdenum-iron protein. *Science* 257, 1677 - 1682.
- [304] Gordon, D. M., P. B. Birch, and A. J. McComb. 1981. Effects of

inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of an Estuarine *Cladophora* in culture. *Bot. Mar.* 24: 93-106.

[305] Thiel, T.(1993) Characterization of genes for an alternative nitrogenase in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *J. Bacteriol.* 175, 6276 - 6286.

[306] Storch, T. A., G. W. Saunders and M. L. Ostrofsky(1990) Diel nitrogen fixation by cyanobacterial surface blooms in Sanctuary Lake, Pennsylvania. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 466 - 471.

[307] Gallin, J. R., M. A. Hashem and A. E. Chaplin(1991) Nitrogen fixation by *Oscillatoria* spp. under autotrophic and photoheterotrophic conditions. *J. Gen. Microbiol.* 137, 31 - 39.

[308] Janson, S., E. J. Carpenter and B. Bergman(1994) Compartmentalisation of nitrogenase in a non-heterocystous cyanobacterium: *Trichodesmium contortum*. *FEMS Microbiol. LETT.* 118, 9 - 14.

[309] Sinha, R. P. and D. P. Hader(1996) Response of a rice field cyanobacterium *Anabaena* sp. to physiological stressors. *Environ. Exp. Bot.* 36, 147 - 155.

[310] Subramanian, G. and S. Shanmugasundaram(1986) Uninduced ammonia release by the nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena*. *FEMS Microbiol. Lett.* 37, 151 - 154.

[311] Ladha, J. K., A. T. Padre, G. C. Punzalan and I. Watanabe (1987) Nitrogen-fixing (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-reducing) activity and plant growth characters of 16 wetland rice varieties. *Soil Sci. Plant Nutr.* 33. 187-200.

[312] Donkor, V. and D.-P. Hader (1993) Effects of tropical solar radiation on the motility, photomovement and pigmentation in filamentous, gliding cyanobacteria. *FEMS Microbiol.Ecol.* 86, 159-168.

[313] Donkor, V. D., H. A. K. Amewowor and D.-P. Hader (1993) Effects of tropical solar radiation on the *rw* Castenholz motility of filamentous cyanobacteria, *FEMS Microbiol.Ecol.* 12, 143-148

[314] Sinha, R. P., H. D. A. K. Amewowor and D.-P. Hader (1995) Effect of UV-B irradiation solar growth, survival, pigmentation and nitrogen metabolism enzyme in cyanobacteria, *Acta Protozool.* 34, 187-192.

[315] Vincent, W. F. and S. Roy (1993) Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection, and recovery. *Environ .Rev.* 1, 1-12.

[316] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kmamr and D.-P. Hader (1996)

Impacts of ultraviolet-B irradiation on nitrogen-fixing cyanobacteria of rice paddy fields. *J. Plant Physiol.* 32, 107-113.

[317] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar and D.-P. Häder (1995) Disintegration of phycobilisomes in a rice field cyanovacterium *Nostoc* sp. following UV irradiation. *Biochem. Mol. Biol Int.* 37, 697-706.

[318] Häder, D.-P. and R. C. Worrest (1991) Effects of enhanced solar-ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Photochem. Photobiol.* 53, 717-725.

[319] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar Anand Häder (1995) Spectroscopic and biochemical analyses on phycobiliproteins of *Abaena* sp. and *Nostoc carmum*. *Bot. Acta* 180, 87-92.

[320] Grossman A. R., M. R. Schaefer, G. G. Ching and J. L. Collier (1993) Phycobilisome, a light harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* 57, 725-749.

[321] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kumar, M. Häder and D.-P. Häder (1996) Effects of UV irradiation on certain physiological and biochemical processes in cyanobacteria. *J. Photochem Photobiol B Biol.* 32, 107-114.

[322] Blakefield, M. K. and D. O. Harries (1994) Delay of cell differentiation in *Anabaena aequalis* cause by UV-B radiation and the role of photoreactivation and excision repair. *Photochem. Photobiol.* 59, 204-208.

[323] Kumar, A., R. P. Sinha and D.-P. Häder (1996) Effect of U-B on enzymes of nitrogen metabolism in the cyanobacterium *Nostoc calcicola*. *J. Plant Physiol.* 148, 86-91.

[324] Reynolds C.S., R. L. Oliver and, A. E. Waslsby (1987) Cyanobacteria dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *N. Z. J. Mar Freshwater Res.* 21, 379-390.

[325] Garcia-Pichel, F. and R. W. Castenholz (1991) Characterization and biological implication of scytonemin a cyanobacterial sheath pigment. *J. Phycol.* 27, 395-409.

[326] Garcia-Pichel F, C. E. Wingard and R. W. Castenholz (1993) Evidence regarding the UV sunscreen role of a mycosporin-like compounds in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp *Appl. Environ Microbiol.* 59, 170-176.

[327] Weiner, D. (1992) Cyanobacteria symbioses(except lichen). In symbiosis of plants and microbes(Edited by D werner), pp. 220-247. Chapman and Hall, London.



- [328] Beardsell, D.V., D.G. Nicholas (1982) *Scientia Horticulturae*, 17, pp.49-59.
- [329] Berkowitz, N. (1964) *Engineering Journal*, 47, pp.16-29.
- [330] Choudry, G.G. (1983) "Humic Substances", Gordon and Breach Science Publication.
- [331] Pang, L.S.K., A.M. Vassallo, and M.A. Wilson (1990) *Organic Geochemistry*, 16, pp.853-864.
- [332] Patti, A.F., R. Levi-Minzi, R. Riffaldi, and G. Guidii (1988) *Proceedings of Science, Technology and Utilization of Humic Acid Seminar*, Sydney, pp.6-105.
- [333] Tan, K.H., and A.Binger (1986) *Soil Science*, 141, pp.20-25.
- [334] Kurtiz, T., A. Ernst, T. A. Black and C. P. Wolk(1993) High-resolution mapping of genetic loci of *Anabaena* PCC 7120 required for photosynthesis and nitrogen fixation. *Mol. Microbiol.* 8, 101 - 110.
- [335] 최경민, 양재경, 박응로, 방극수, 이성택. 1997. 양돈 폐수 처리를 위한 *Rhodospirillum rubrum* N-1의 분리 및 특성 연구, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 25, No. 3, 322-327
- [336] 김연옥. 1998. 혐기성 회분식 배양에서 양돈 폐수의 NH<sub>4</sub>-Nitrogen이 혐기성 미생물에 미치는 영향, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 26, No. 2, 173-178
- [339] 박춘호, 김용기, 유희중, 오평수. 1991. 유지 폐수의 생물학적 처리에 관한 연구, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 19, No. 1, 88-93
- [340] 이석준, 김성빈, 김희식, 권기석, 윤병대, 오희목. 1999. 축산 폐수의 고도 처리 및 지질 생산을 위한 *Botryococcus braunii*의 대량 배양, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 27, No. 2, 166-171
- [341] Shwlef. G. and C. J. Soeder. 1980. *Algal Biomass: Production and Use*, Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [342] Van Os, E. A. 1994. Closed growing systems for more efficient and environmental friendly production. *Acta Horticulturae*(in press).
- [343] Chevalier, P. and J. de la NoUe. 1985. Effet of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and ort hophosphate removal from wastewater. *Biotechnol. Lett.* 7:395-400
- [344] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized Phormidium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 292-297.
- [345] D'Elia, C. F., P. A. Steudler, and N. Corwin. 1977. Determination of

total nitrogen in aqueous samples using persulfate digestion. *Limnol. Oceanogr.* 22: 760-764.

[346] Guterstam, B. and J. Todd. 1990. Ecological engineering for wastewater treatment and its application in new England and Sweden. *Ambio* 19: 173-175.

[347] Aziz, M. A. and W. J. Ng. 1993. Industrial wastewater treatment using an activated algae-reactor. *Water Sci. Technol.* 28: 71-76.

[348] De la Noue, J. and A. Basseres. 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae. *Biological Wastes* 29: 17-31.

[349] De la Noue, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 292-297.

[350] Hu, Q., Westerhoff, P. and Vermaas W. 2000. Removal of nitrate from groundwater by cyanobacteria: Quantitative assessment of factors influencing nitrate uptake. *Appl. environ. Microbiol.* 66(1): 133-139.

[351] Nora, F. Y. T. and W. Y. Shan. 1994. Feasibility of using *Chlorella pyrenoidosa* in the removal of inorganic nutrients from primary settled sewage, pp. 291-299. In S. M. Phang (ed.), *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*, Institute of Advanced Studies, University of Malaya.

[352] 小林達治. 1978. 化学微生物. pp 8-6042.

[353] Kobayshi, M. and Y. T. Tchan. 1973. Treatment of industrial waste solution and production of useful by-products using a photosynthetic bacteria method. *Water Res.*, 7: 1219-1224.

[354] American Type Culture Collection. *Catalogue of Bacteria and Phages*, pages 363, 438. 18th edition, 1992.

[355] Ahlgren, G. 1988. Phosphorus as growth-regulating factor relative to other environmental factors in cultured algae. *Hydrobiologia* 170:191-210.

[356] Herrero, A., and E. Flores. 1997. Nitrate metabolism, p. 1-33. In A. K. Rai(ed.), *Cyanobacterial nitrogen metabolism and environmental biotechnology*. Narosa P publishing House, New Delhi, India.

[357] Bohumil Volesky, *Biosorption of Heavy Metals*(Montreal : CRC Press, 1990). p. 177

[358] Ronald Atlas, Richard Bartha, *Microbial Ecology* (London:Benjamin /Cummings Publishing Co. Inc., 1995). pp. 232~233.

[359] Gordon, D, M., P. B. Birdh, and A. J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of and Estuarine *Cladophora*

in culture. *Bot. Mar.* 24: 93-106.

[360] Walter, M. R. J. Bauld, D. J. Des Marais and J. W. Schopf (1992) A general comparison of microbial mats and microbial stromatolites bridging the gap between the modern and the fossil. In *The Proterozoic Biosphere* (Edited by J. W. Schopf and C. Klein). PP. 335-338. University Press, Cambridge.

[361] Fay, P. (1992) Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiol. Rev.* 56, 340-373.

[362] Tandeau de Marsac, N. and J. Houmard (1993) Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 104, 119-190.

[363] Sinha, R. P. and A. Kumar (1992) Screening of blue-green algae for biofertilizer. In *Proceedings of the National Seminar on Organic Farming* (Edited by P. S. Patil), pp. 95-97. Pune, India.

[364] Banerjee, M. and H. D. Kumar (1992) Nitrogen fixation by *Aulosira fertilissima* in rice fields. *Naturalia* 17, 51-58.

[365] Büdel, B. and D. C. J. Wessels (1991) Rock inhabiting blue-green algae/cyanobacteria from hot arid regions. *Algol. Stud.* 64, 385-398.

[366] Lange, O. L., G. J. Kidron, B. Büdel, A. Meyer, E. Kilian and A. Abeliovich (1992) Taxonomic composition and photosynthetic characteristics of the 'biological soil crusts' covering sands dunes in the western Negev Desert. *Funct. Ecol.* 6, 519-527.

[367] Johansen, J. R. (1993) Cryptogamic crusts of semiarid and arid lands of North America. *J. Phycol.* 29, 140-147.

[368] Whitton, B. A. (1992) Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In *Photosynthetic Prokaryotes* (Edited by N. H. Mann and N. G. Carr), pp. 1-51. Plenum Press, New York.

[369] Stal, L. J. (1995) Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. *New Phytol.* 131, 1-32.

[370] Dodds, W. K., D. A. Gudder and D. Mollenhauer (1995) The ecology of *Nostoc*. *J. Phycol.* 31, 2-18.

[371] Rai, A. N. (1990) Cyanobacteria in symbiosis. In *Handbook of symbiotic Cyanobacteria* (Edited by A. N. Rai), pp. 1-7. CRC Press, Boca Raton, FL.

[372] Peter, G. A. (1991) *Azolla* and other plant-cyanobacteria symbioses: aspects of form and function. *Plant Soil* 137, 25-36.

[373] Lindblad, P., A. Atkins and J. S. Pate (1991)  $N_2$  - fixation by freshly

isolated Nostoc from coralloid roots of the cycad *Macrozamia riedlei* (Fisch. ex Gaud.) Gardn. Plant Physiol. 95. 753-759.

[374] Bergman., B. C. Johansson and E. Soderback(1992) The Nostoc - *Gunnera* symbiosis. New Phytol. 122. 379 - 400.

[375] Gantar, M., N. W. Kerby and P. Rowell(1991) Colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) by N<sub>2</sub> - fixing cyanobacteria: II An ultrastructural study. New Phytol. 118. 485 - 492.

[376] Haselkorn, R.(1992) Developmentally regulated gene rearrangements in prokaryotes. Annu. Rev. Genet 26. 111 - 128.

[377] Wolk, C. P., A. Earnst and J. Elhai (1994) Heterocyst metabolism and development. In *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (Edited by D. A. Bryant). pp. 769-823. Kluwer Academic, Dorcrecht.

[378] Georgiadis, M. M., H. Komiya. P. Chakrabarti, D. Woo. J. J. Kornuc and D. C. Rees (1992) Crystallographic structure of the nitrogenase iron protein from *Azotobacter vinelandii* Science 257, 1657 - 1659.

[379] Kim, J. and D. C. Rees (1992) Structural models for the metal centers in the nitrogenase molybdenum-iron protein. Science 257, 1677 - 1682.

[380] Gordon, D. M., P. B. Birch, and A. J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of an Estuarine *Cladophora* in culture. Bot. Mar. 24: 93-106.

[381] Thiel, T.(1993) Characterization of genes for an alternative nitrogenase in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. J. Bacteriol. 175, 6276 - 6286.

[382] Storch, T. A., G. W. Saunders and M. L. Ostrofsky(1990) Diel nitrogen fixation by cyanobacterial surface blooms in Sanctuary Lake, Pennsylvania. Appl. Environ. Microbiol. 56, 466 - 471.

[383] Gallin, J. R., M. A. Hashem and A, E, Chaplin(1991) Nitrogen fixation by *Oscillatoria* spp. under autotrophic and photoheterotrophic conditions. J. Gen. Microbiol, 137, 31 - 39.

[384] Janson, S., E. J. Carpenter and B. Bergman(1994) Compartmentalisation of nitrogenase in a non-heterocystous cyanobacterium: *Trichodesmium contortum*. FEMS Microbiol, LETT. 118, 9 - 14.

[385] Sinha, R. P. and D. P. Hader(1996) Response of a rice field cyanobacterium *Anabaena* sp. to physiological stressors. Environ. Exp. Bot. 36, 147 - 155.

[386] Subramanian, G. and S. Shanmugasundaram(1986) Uninduced ammonia

- release by the nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena*. *FEMS Microbiol. Lett.* 37, 151 - 154.
- [387] Ladha, J. K., A. T. Padre, G. C. Punzalan and I. Watanabe (1987) Nitrogen-fixing (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-reducing) activity and plant growth characters of 16 wetland rice varieties. *Soil Sci. Plant Nutr.* 33. 187-200.
- [388] Donkor, V. and D.-P. Häder (1993) Effects of tropical solar radiation on the motility, photomovement and pigmentation in filamentous, gliding cyanobacteria. *FEMS Microbiol.Ecol.* 86, 159-168.
- [389] Donkor, V. D., H. A. K. Amewor and D.-P. Häder (1993) Effects of tropical solar radiation on the *rw* Castenholz motility of filamentous cyanobacteria, *FEMS Microbiol.Ecol.* 12, 143-148
- [390] Sinha, R. P., H. D. A. K. Amewor and D.-P. Häder (1995) Effect of UV-B irradiation solar growth, survival, pigmentation and nitrogen metabolism enzyme in cyanobacteria, *Acta Protozool.* 34, 187-192.
- [391] Vincent, W. F. and S. Roy (1993) Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection, and recovery. *Environ. Rev.* 1, 1-12.
- [392] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kumar and D.-P. Häder (1996) Impacts of ultraviolet-B irradiation on nitrogen-fixing cyanobacteria of rice paddy fields. *J. Plant Physiol.* 32, 107-113.
- [393] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar and D.-P. Häder (1995) Disintegration of phycobilisomes in a rice field cyanobacterium *Nostoc* sp. following UV irradiation. *Biochem. Mol. Biol Int.* 37, 697-706.
- [394] Häder, D.-P. and R. C. Worrest (1991) Effects of enhanced solar-ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Photochem. Photobiol.* 53, 717-725.
- [395] Sinha, R. P., M. Lebert, A. Kumar, H. D. Kumar Anand Häder (1995) Spectroscopic and biochemical analyses on phycobiliproteins of *Anabaena* sp. and *Nostoc carmum*. *Bot. Acta* 180. 87-92.
- [396] Grossman A. R., M. R. Schaefer, G. G. Ching and J. L. Collier (1993) Phycobilisome, a light harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* 57, 725-749.
- [397] Sinha, R.P., N. Singh, A. Kumar, H. D. Kumar, M. Häder and D.-P. Häder (1996) Effects of UV irradiation on certain physiological and biochemical processes in cyanobacteria. *J. Photochem Photobiol B Biol.* 32, 107-114.

- [398] Blakefield, M. K. and D. O. Harries (1994) Delay of cell differentiation in *Anabaena aequalis* cause by UV-B radiation and the role of photoreactivation and excision repair. *Photochem. Photobiol.* 59, 204-208.
- [399] Kumar, A., R. P. Sinha and D.-P. Hader (1996) Effect of U-B on enzymes of nitrogen metabolism in the cyanobacterium *Nostoc calcicola*. *J. Plant Physiol.* 148, 86-91.
- [400] Reynolds C.S., R. L. Oliver and, A. E. Waslsby (1987) Cyanobacteria dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *N. Z. J. Mar Freshwater Res.* 21, 379-390.
- [401] Garcia-Pichel, F. and R. W. Castenholz (1991) Characterization and biological implication of scytonemin a cyanobacterial sheath pigment. *J Phycol.* 27, 395-409.
- [402] Garcia- Pichel F, C. E. Wingard and R. W. Castenholz (1993) Evidence regarding the UV sunscreen role of a mycosporin-like compounds in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp *Appl. Environ Microbiol.* 59, 170-176.
- [403] Weiner, D. (1992) Cyanobacteria symbioses(except lichen). In *symbiosis of plants and microbes*(Edited by D werner), pp. 220-247. Chapman and Hall, London.
- [404] Beardsell, D.V., D.G. Nicholas (1982) *Scientia Horticulturae*, 17, pp.49-59.
- [405] Berkowitz, N. (1964) *Engineering Journal*, 47, pp.16-29.
- [406] Choudry, G.G. (1983) "Humic Substances", Gordon and Breach Science Publication.
- [407] Pang, L.S.K., A.M. Vassallo, and M.A. Wilson (1990) *Organic Geochemistry*, 16, pp.853-864.
- [408] Patti, A.F., R. Levi-Minzi, R. Riffaldi, and G. Guidii (1988) *Proceedings of Science, Technology and Utilization of Humic Acid Seminar*, Sydney, pp.6-105.
- [409] Tan, K.H., and A.Binger (1986) *Soil Science*, 141, pp.20-25.
- [410] Kurtiz, T., A. Ernst, T. A. Black and C. P. Wolk(1993) High-resolution mapping of genetic loci of *Anabaena* PCC 7120 required for photosynthesis and nitrogen fixation. *Mol. Microbiol.* 8, 101 - 110.