

工學碩士 學位論文

Bacillus sp.를 이용한 침출수의 고도처리

A Study on Advanced Treatment of
the Landfill Leachate using *Bacillus sp.*

指導教授 金 仁 洙

2002年 2月

韓國海洋大學校 大學院

土 木 環 境 工 學 科

朴 相 昊

목 차

| | |
|--|-----|
| 목차 | i |
| List of Tables | iii |
| List of figures | iv |
| Abstract | vi |
| | |
| I. 서론 | 1 |
| | |
| II. 문헌연구 | 3 |
| 2.1 침출수 특성 | 3 |
| 2.1.1 성상 | 3 |
| 2.1.2 침출수 수질특성 | 5 |
| 2.1.3 침출수 발생량 | 6 |
| 2.2 침출수의 처리 | 8 |
| 2.2.1 침출수에 함유된 고농도 유기물의 처리 | 9 |
| 2.2.1.1 물리화학적 처리방법 | 9 |
| 2.2.1.2 생물학적 처리방법 | 11 |
| 2.3 생물학적인 질소제거 | 13 |
| 2.4 생물학적인 인제거 | 13 |
| 2.4.2 인제거 원리 | 14 |
| 2.5 <i>Bacillus</i> sp.를 이용한 질소제거 | 15 |
| 2.5.1 동화작용에 의한 질소제거 | 15 |
| 2.5.2 호기탈질에 의한 질소제거 | 16 |
| 2.5.4 일반적인 질산화 → 탈질 과정에 의한 질소제거 | 17 |
| 2.5.5 질산화와 탈질에 대한 자유에너지 비교 | 18 |
| 2.6 <i>Bacillus</i> sp.를 이용한 인 제거 | 19 |
| 2.7 <i>Bacillus</i> 의 일반적인 특징 | 19 |
| 2.7.1 <i>Bacillus</i> sp. 의 종별 분리 및 특성 | 20 |
| 2.7.1.1 <i>Bacillus</i> sp. 종류 | 20 |
| 2.7.1.2 <i>Bacillus</i> 종별 특징 | 22 |
| 2.7.2 포자 | 30 |

| | |
|---|----|
| 2.7.3 그람염색 | 33 |
| 2.8 <i>Bacillus</i> sp.를 이용한 침출수 처리공정 | 34 |
| 2.8.1 B3 공정 | 34 |
| 2.8.2 B3 반응조에서 <i>Bacillus</i> sp.의 성장조건 | 35 |
| III. 실험장치 및 방법 | 37 |
| 3.1 실험장치 | 37 |
| 3.2 침출수 성상 | 38 |
| 3.3 연구 내용 | 40 |
| 3.3.1 <i>Bacillus</i> sp.의 동정 | 40 |
| 3.3.2 암모니아 농도에 따른 <i>Bacillus</i> sp.의 증식과 형태학적 변화 | 41 |
| 3.3.3 <i>Bacillus</i> sp. 반응조에서의 침출수 처리결과 변화 | 42 |
| 3.4 분석항목 및 방법 | 43 |
| IV. 결과 및 고찰 | 45 |
| 4.1 <i>Bacillus</i> sp.의 동정 | 45 |
| 4.2 암모니아 농도에 따른 <i>Bacillus</i> sp.의 증식과 형태학적 변화 | 46 |
| 4.2.1 NH_4^+ -N의 농도에 따른 <i>Bacillus</i> sp.의 증식과 형태학적 변화 | 46 |
| 4.2.2 NH_3^+ -N의 농도에 따른 <i>Bacillus</i> sp.의 증식과 형태학적 변화 | 50 |
| 4.3 각 단계별 처리수질의 변화 | 51 |
| 4.3.1 유입수질의 변화 | 51 |
| 4.3.2 처리수질의 변화 | 52 |
| 4.4 생물학적 질산화, 탈질에 대한 영향인자 검토 | 54 |
| 4.4.1 아질산 축적 | 54 |
| 4.4.2 생물학적 질화탈질에 의한 영향인자 | 55 |
| 4.5 처리율 저하에 따른 대책 | 55 |
| V. 결론 | 57 |
| VI. 참고문헌 | 58 |

List of Table

| | |
|---|----|
| Table 2.1 Variation of municipal sanitary landfill leachate constituents, along the landfill ages | 4 |
| Table 2.2 Effective factors influx on landfill leachate generation | 6 |
| Table 2.3 Comparison of free energy about oxidation and denitrification of nitrogen | 18 |
| Table 2.4 Denitrifying bacteria and their taxonomic affiliations | 20 |
| Table 2.5 Morphology of Bacillus species | 29 |
| Table 3.1 Charateristics of Landfill Leachate | 39 |
| Table 3.2 Operating condition in plot plant | 43 |
| Table 3.3 Summary of Analytical methods | 44 |
| Table 4.1 Change of Bacillus sp. shape by ammonia concentration .. | 48 |
| Table 4.2 After do processing plant establishment quality of water change | 56 |

List of Figures

| | |
|---|----|
| Fig. 2.1 treatment methods for landfill leachate | 9 |
| Fig. 2.2 Phosphate transports in and out of bacteria in connection with BPR | 15 |
| Fig. 2.3 Proposed model for the anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX) of Brocadia-like microorganisms. HH: hydrazine hydrolase, HZO: hydrazine oxidizing enzyme, NR: nitrite reducing enzyme | 16 |
| Fig. 2.4 NO _x cycle. Hypothetical model of the ammonia oxidation by Nitrosomonas. According to this model, N ₂ O ₄ is the oxidant for the ammonia oxidation. Under oxic conditions oxygen is used to re-oxidize NO to NO ₂ (N ₂ O ₄). Hydroxylamine is oxidized to nitrite | 17 |
| Fig. 2.5 Sporulation. Phase-contrast microscopy of cultures grown in Difco sporulation medium examined at approximately 12 h after the initiation of sporulation is shown. Clockwise from top left, <i>B. subtilis</i> PY79, Lactipan plus, Subtyl, Biosubtyl "Dalat," Bactisubtil, and Domuvar. | 28 |
| Fig. 3.1 Flow scheme of the process for treating Landfill Leachate · | 37 |
| Fig. 3.2 Picture of Pilot plant for treating Landfill Leachate | 38 |
| Fig. 3.3 Trend of leachate characteristics during the study | 40 |
| Fig. 3.4 Method for Gram-Strain of <i>Bacillus</i> sp. | 41 |
| Fig. 4.1 SEM photograph of <i>Bacillus</i> sp. from reactor | 45 |
| Fig. 4.2 <i>Bacillus</i> sp. growth curved line by NH ₄ ⁺ -N concentration · | 47 |
| Fig. 4.3 <i>Bacillus</i> sp. growth curve by concentration and time | 50 |
| Fig. 4.4 Leachates contaminant concentration curve of experiments units | 51 |
| Fig. 4.5 Leachates Influent nitrogen concentration | 52 |
| Fig. 4.6 The change of BOD, COD in treated water | 53 |
| Fig. 4.7 The change of nitrogen in treated water | 53 |

Fig. 4.8 The charge of alkalinity in treated water 54
Fig. 4.9 Flow scheme of the Change-process for treating Landfill
Leachate 56

A Study on Advanced Treatment of the Landfill Leachate using *Bacillus sp.*

Sang-Ho, Park

Department of Civil and Environmental Engineering
Graduate School, Korea Maritime University

Abstract

The leachate from municipal waste landfill in Korea, is partially treated only to remove organics in the Conventional Leachate Treatment Plant. But it is necessary to remove nutrients from the leachate in the landfill site to keep up with new regulation established on 1996.

Several processes have been developed to remove nutrients from leachate such as CSTR(Continuous Stirred Tank Reactor), UBF(Upflow Bed Filter), Membrane Separation (MF, UF, NF, R/O), Photocatalytic Oxidation (UV/H₂ O₂, UV/O₃, EB) and B3 system(*Bacillus sp.* process).

However, it has been often noted operational troubles in the above plants owing to high concentration of ammonia and non-biodegradable matters of leachate.

In this study, a Plot scale experiment was conducted for 1 year to evaluate the applicability and several factors in treating leachate with bacillus sp. style biological treatment process, which recently developed in Korea.

The results of experiments can be summarized as follows :

- (1) If enough reaction time and organic matter are given, nitrification and denitrification happened at the same time in reactor.
- (2) The pH and alkalinity was increased and the removal of nitrate

was decreased in accordance with increasing the concentration of ammonia. The pH range occurred nitrification was between 6.3 to 8.7.

(3) When the concentration of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ is more than 3000ppm, the growth of bacillus sp. was stopped.

(4) When the inflow concentration of ammonia was extremely high, it was confirmed to be needed pretreatment process, such as pH of flow control.

I. 서론

우리나라의 쓰레기 매립장은 침출수의 고도처리시설이 미비한 곳이 대부분이며 이로 인한 주변 지하수, 지표수 및 토양의 오염이 날로 심각해져가고 있다. 쓰레기 매립장의 매립된 폐기물 층을 통과하여 배출된 침출수는 유기물 및 질소농도가 높기 때문에 수집하여 적절하게 처리하지 않으면 지표수, 지하수 및 토양을 오염시킬 가능성이 높다. 특히 암모니아성질소는 방류수역에서 생태계에 독성을 미치고 부영양화를 발생시킬 뿐만 아니라 생물학적 처리공정의 효율저하와 악취를 유발시킨다.

2001년에 개정된 침출수 배출규정은 청정지역에서 CODcr 400mg/ℓ, 암모니아성질소 50mg/ℓ, 무기성질소 150mg/ℓ, TP 4mg/ℓ 이내이며 색도와 함께 무기질소에 대한 규정을 부가하고 있으나, 강화된 법규에 비해 관련기술개발의 미비와 예산 부족으로 인해 적법한 매립장 침출수처리 공정의 도입은 단기간에는 어려울 전망이다. 그러나 침출수처리의 미비는 지하수, 지표수와 토양 오염을 가속화시켜 그에 따른 환경회복비용이 매우 크게 증가하기 때문에 국가 경제적 측면에서도 우선적으로 시설해야 될 환경시설 중 하나이다.

침출수 처리에 관한 연구는 펜톤산화, 활성탄 흡착 및 이온교환수지 처리법, CSTR(Continuous Stirred Tank Reactor), UBF(Upflow Bed Filter), 막분리(MF, UF, NF, R/O), 광촉매 산화(UV/H₂ O₂, UV/O₃, EB), Bacillus sp.를 이용한 처리 등이 연구되어 실용화되고 있다.

본 연구에서는 Bacillus sp.을 이용한 침출수처리장치의 모형실험장치를 1년간 S 쓰레기 매립장 침출수를 대상으로 현장에서 가동시킨 결과를 분석하여 그 처리성과 영향인자를 도출하여 최적운전의 조건을 제시하였다.

본 연구의 결과는 *Bacillus* sp.를 이용한 처리공정에서 암모니아성 질소 성분이 높고 C/N 비의 변화가 심한 침출수의 적정처리에 기여할 것으로 기대된다.

II. 문헌연구

2.1 침출수 특성

2.1.1 성상

매립지에서 발생하는 침출수의 성상은 폐기물의 종류, 유기물의 함량, 매립경과년수, 수분함량, 수분저장능력 및 매립방식 등의 다양한 인자들에 의해 매우 다른 값을 보이고 있다. 그러나 일반적으로 매립지의 경과년수 증가에 따라 유기물 양의 감소와 더불어 상대적인 무기물 함량의 증가가 일어난다. 그리고 일반 하수와 달리 다양한 종류의 중금속, 높은 유기물 농도, 방향족 화합물(aromatic compounds), 염소계 유기용매(chlorinated solvents), 시안화합물(cyanide compounds) 등의 난분해성 유기화합물, 화학적으로 환원된 무기물질 즉 암모니아, 철(II), 망간(II) 등이 존재하며 나트륨, 염화물, 황화물과 같은 다양한 이온들의 영향으로 인해 처리시 많은 문제점을 내포하고 있다(4).

동일한 매립장에서 매립시작 1년후, 5년후, 16년후의 침출수 조성에 관한 자료를 Table 2.1에서 나타내었다.

Table 2.1 Variation of characteristic of municipal sanitary landfill leachate according to the landfill ages (Unit : mg/ℓ)

| Parameter | Age of Landfill | | |
|--------------------------------|-----------------|--------|---------|
| | 1 Year | 5 Year | 16 Year |
| BOD | 7,500~28,000 | 4,000 | 80 |
| CODcr | 10,000~40,000 | 8,000 | 400 |
| pH | 5.2~6.4 | 6.3 | |
| TDS | 10,000~14,000 | 6,794 | 1,200 |
| TSS | 100~700 | | |
| Conductance* | 600~9,000 | - | |
| Alkalinity(CaCO ₃) | 800~4,000 | 5,810 | 2,250 |
| Hardness(CaCO ₃) | 3,500~5,000 | 2,200 | 540 |
| Total P | 25~35 | 12 | 8 |
| Ortho P | 23~33 | - | |
| NH ₄ -N | 56~482 | | |
| Nitrate | 0.2~0.8 | 0.5 | 1.6 |
| Calcium | 900~1,700 | 308 | 109 |
| Chloride | 600~800 | 1,330 | 70 |
| Sodium | 450~500 | 810 | 34 |
| Potassium | 295~310 | 610 | 39 |
| Sulfate | 400~650 | 2 | 2 |
| Manganese | 75~125 | 0.06 | 0.06 |
| Magnesium | 160~250 | 450 | 90 |
| Iron | 210~325 | 6.3 | 0.6 |
| Zinc | 10~30 | 0.4 | 0.1 |
| Copper | - | < 0.5 | < 0.5 |
| Cadmium | - | < 0.05 | < 0.05 |
| Lead | - | 0.5 | 1.0 |

또한 대부분의 매립지에서는 공학적 제어의 부족으로 많은 매립지역이 부주의하게 선정되었고 유해폐기물이나 산업 폐기물에 의해 발생하는 독성물질도 고려하여야 한다. 이러한 독성물질의 방출은 주로 침출수의 지하수로의 이동, 침출수의 이동과 지표수로의 유출, 대기로의 휘발성가스의 방출로 야기된다. 도시폐기물 매립침출수에 발견되는 많은 독성물질의 평균농도는 Table. 2.1에 나와 있다. 많은 고농도의 독성성분 때문에 매립은 수질오염에 대한 잠재성을 포함하고 인간건강에 위협이 될 수 있다.

2.1.2 침출수 수질특성

침출수 수질의 가장 큰 특성은 각종 오염물질이 고농도로 포함되어 있으며 매립시간경과에 따른 수질변화가 크다는 점이다. 우리나라 매립지 침출수의 농도변화를 살펴보면 유기물농도는 매립초기에 매우 높고 시간이 경과하면서 낮아지지만 난분해성 물질의 비율(BOD/COD)은 오히려 시간의 경과에 따라 증가하게 된다(2,3). 이는 생물학적 처리가 매립초기에 매우 효과적일 수 있지만 시간의 경과에 따라 비효율적으로 될 수 있음을 의미한다.

암모니아성질소는 유기물과는 달리 시간이 경과하면서 점차 높아지며, 매립이 종료된 후에도 높게 유지되는 경향을 보인다. 이와 같은 현상은 우리나라와 같이 음식물쓰레기의 구성비가 높은 경우에 흔히 발생한다. 용해성 이온 중 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- 등 이온성 물질의 농도가 높지만 생물학적 처리에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며, 중금속 및 기타 독성물질도 침출수 처리에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다(3). 따라서 침출수 처리에는 매립초기에는 유기물이 그 이후에는 질소가 중심이 될 것이며, 미관 또는 심리적인 이유로 색도제거가 필

요하다.

2.1.3 침출수 발생량

매립지에서 발생하는 침출수의 처리를 위해 선행되어야 하는 것은 침출수 발생량을 산정하여야 한다. 침출수의 발생에 영향을 주는 인자들로는 유효수자원, 매립지 표면상태, 쓰레기의 매립상태, 토양조건 등이 있으며 이를 나누면 Table 2.2과 같다.

Table 2.2 Effective factors influx on landfill leachate generation

| | |
|---|------------------------|
| Water resources | rainfall |
| | surface water |
| | underground water |
| | water in trash |
| Surface condition of landfill | surface vegetation |
| | kind of soil |
| | surface landform |
| | temperature & humidity |
| | abundance of water |
| Reclamation condition & soil condition | storage factor |
| | conduction |
| | porosity |

이 외에도 운영방법과 매립방법 등에 의해서도 발생량이 달라질 수 있으며 매립지의 쓰레기 압축강도는 침출수 발생량에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

그리고 침출수의 발생량은 대부분 강우량에 기인하며, 산정방법으로는 여러가지 수학적 방법이 사용되어지고 있다. 이들은 공통적으로 매립지

전체의 물질수지 관계식에 그 기본을 두고 있다(5).

침출수 발생량은 처리장규모를 결정하는 인자로 적절하게 추정하지 못하는 경우 처리용량의 과소 및 과다 설계에 다른 처리효율의 저하 및 과잉투자를 유발할 수 있다. 침출수 발생량 산정은 HELP 모델과 같이 물질수지이용법, 합리식, 확률강우이용법 등이 있으며 우리나라에서는 합리식이 가장 널리 사용되고 있다.

환경부에 의하면 총 496개의 매립지 중 발생한 침출수량이 파악된 매립지는 231개(2개소는 미발생)로 47%에 불과하여 절반이 넘는 매립지에서 침출수발생량 조차 파악하지 못한 것으로 나타났다. 따라서 이들 매립지에서 정상적인 침출수처리가 이루어지고 있다고 보기 어렵다. 매립지규모별 단위면적당 침출수발생량을 살펴보면 면적이 100ha이상인 경우 발생량은 약 11톤/일·ha이며 그 이하 규모의 매립지에서는 9톤/일·ha 이하임을 알 수 있다. 이는 98년 이후 설계된 8개 매립지에서 합리식을 이용하여 제시한 일평균 발생량 23톤/일·ha 의 약 1/2이하에 해당하는 값이다(1). 침출수 발생량은 강우의 영향으로 인하여 건기와 우기의 차이가 크다. 침출수 집배수층이 불완전한 것으로 알려진 수도권매립지의 경우 강우시 침출수발생량이 일평균 침출수발생량의 2배 정도로 알려져 있다(6). 따라서 침출수 집배수시스템 기능이 정상적으로 유지되는 매립지에서는 우기와 건기의 침출수 발생량의 차이는 더욱 크게 될 것이다.

폐기물 함수율의 영향을 배제하고 강우의 50%가 우기인 6~8월 사이에 집중된다고 가정하면, 우기인 6~8월 사이의 평균 침출수량은 일평균 침출수량의 약 2배정도이고, 건기의 침출수량은 일평균 침출수량의 66%에 지나지 않아 우기와 건기의 침출수 발생량은 약 3배정도의 차이를 나타내게 된다. 이와 같은 침출수 발생량의 변화는 처리공정의 효율에 부정적인 영향을 미치므로 충분히 고려하여 설계용량을 산정해야 한다.

2.2 침출수의 처리

위생 매립지로부터의 침출수 처리를 위한 시설을 계획하고 설계하는 일은 매립지 설계, 침출수 수질과 양, 필요한 처리정도, 방류수와 찌꺼기의 최종 처분법의 지식을 필요로 한다. 법적인 문제, 강제적 규정, 대중의 참여와 같은 많은 비기술적인 인자들도 계획과 설계에 영향을 미칠 수 있다. 게다가 대부분의 시설은 매립기간 예측(30년이나 그 이상)을 통하여 설계된다. 이러한 기간동안 침출수 수질은 변할 것이고, 새 규제법이 나올지 모르고, 경제적인 인자가 변할지 모른다. 따라서 공학자는 이러한 가능성을 고려하고 기술, 규제, 침출수 특성, 경제성이 변하여도 처리공정을 탄력적으로 운용하도록 해야 한다.

매립지 침출수 처리에 있어서 문제점들은 다음과 같다. :

- (1) 믿을만한 처리공정의 선택과 사용을 위해서는 높은 농도의 폐수와 오염잠재성을 고려해야 한다.
- (2) 매립지마다 적용 가능한 폐기물 처리 기술이 달라 일반적인 공정을 도입할 수가 없다. 매립지마다 적절한 처리를 위해 따로 기술화되어야 한다.
- (3) 침출수의 원인은 주로 수문학적 그리고 기후적 인자에 의존하는 계절적 침투수이다.
- (4) 매립지에 매립한 고형폐기물의 화학적 성질은 침출수 조성에 막대한 영향을 끼친다.
- (5) 단기간 장기간에 걸쳐 일어나는 침출수 양과 수질에서의 변동이 처리공정 설계시 고려되어야 한다. 초기 매립지로부터 나온 침출수를 효율적으로 처리하기 위해 설계된 공정은 미래에 매립지 일령에 따라 혹은 방출기준 변화에 따라 적절히 침출수를 처리하기 위해 선정되어야 한다.

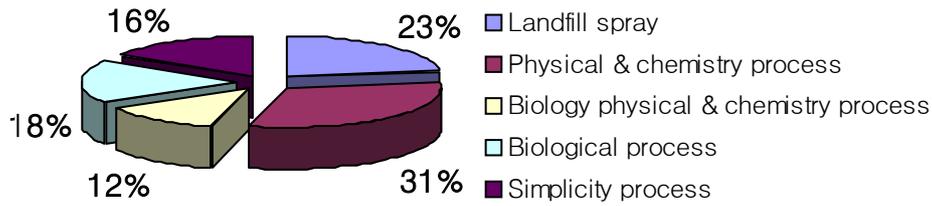


Fig. 2.1 Treatment methods for landfill leachate (1)

2.2.1 침출수에 함유된 고농도 유기물의 처리

매립년령이 얼마되지 않은 매립장에서 발생하는 침출수는 고농도의 유기물질을 함유하고 있으므로 생물학적 처리 방법이 유리하고 매립년수가 오래된 매립장에서 발생하는 침출수에는 생물학적으로 처리가 불가능한 물질이 상대적으로 많은 비율로 존재하므로 물리·화학적 방법이 권유되고 있다(4).

2.2.1.1 물리화학적 처리방법

물리화학적 처리공정을 이용한 침출수의 처리는 소규모 매립장이나 매립연령이 오래된 매립장에서 발생하는 침출수의 처리에 이용되고 있으며 화학응집침전, 활성탄 흡착 및 이온교환수지, 화학적 산화, 역삼투, 전기응집 및 분해, 펜톤산화 등의 방법이 있다.

화학응집제를 이용한 처리시 침출수의 SS나 색도의 제거에는 효율적이고 특히 석회나 가성소다로 침출수의 pH를 증가시킬 때 형성되는 철과 망간의 산화물이 침출수내의 각종 중금속을 흡착·침전시킴으로써 이

방법이 침출수의 중금속 제거에 효율적이지만 COD제거에는 비효율적이며 슬러지 생산량이 크다는 단점을 가지고 있다(7,8).

활성탄 흡착 및 이온 교환수지의 이용은 침출수 처리에 있어 단독적으로 사용되기보다는 물리·화학적 혹은 생물학적 방법으로 처리한 다음 잔류하는 유기성 탄소, 색도, 중금속 물질을 제거하는데 매우 효과적인 것으로 나타났다(9). 염소, 차아염소산 칼슘, 과망간산칼륨, 오존 등의 4 종류의 산화제를 사용한 화학적 산화 공법을 이용하여 침출수를 처리한 연구결과는 화학침전에 비교하여 효율이 양호하며 철 및 색도의 제거효율은 매우 양호하였으나 산화제 주입농도가 높아 비경제적이나 안정화된 매립지의 침출수의 처리에 효과적임을 알 수 있었다(7). 그러나 새로운 매립지에서 발생하는 침출수는 오존에 의해서 잘 분해되지 않는 지방산을 함유하고 있기 때문에 오존처리가 부적합하다고 한다.

활성탄과 더불어 물리·화학적 처리방법 중 유기물 제거효율이 가장 뛰어난 것으로 알려진 역삼투 및 막공법은 직접적인 침출수 처리시에는 막의 막힘이 심하기 때문에 생물학적 처리 공법후의 후처리 공정으로써 권장되어진다.

펜톤 산화 반응은 침출수내의 난분해성 유기물질을 분해하거나 고분자 유기물질을 생물학적으로 분해가 쉬운 물질로 전환시키시 위하여 적용되었는데 펜톤 시약의 주입량, 반응 pH, 반응시간에 따른 COD 제거효율을 실험한 결과들을 보면 펜톤 주입량은 침전 슬러지 발생량과 경제성 및 처리효율을 고려할 때 H_2O_2 와 $FeSO_4$ 무게비는 1:1, 각각의 농도가 2000 mg/l, pH 3 ± 0.5 , 반응시간은 6시간 정도가 적당한 것으로 나타났으며, 이러한 조건으로 처리한 결과 COD 제거율은 COD_{Cr} 42%, COD_{MN} 의 경우 0.14에서 0.57로 증가하였다. 이것은 침출수의 일부 유기물질들이 산화되어 보다 분해가 용이한 저분자 유기물질로 전환된 것으로 판단되며 후처리 공정으로 생물학적 처리의 가능성을 보여주고 있다. 그밖에

철을 비롯한 중금속 성분이 50%이상 제거되었고, 인과 부유물질의 제거도 상당히 이루어졌으며 특히 산화반응과 관련하여 알칼리도의 소모가 많았다. 그리고 최근에는 전기응집·분해공정이 침출수에 포함되어져 있는 생물학적으로 처리가 어려운 난분해성 물질을 처리하기 위한 방법으로 시도되었다. 전기분해의 공정 메커니즘으로는 산화, 환원, 분해, 축적이 있고 전기응집 메커니즘으로는 응집, 흡수, 흡착, 침전, 부상이 있다고 알려져 있는데, 큰 분자량의 물질은 응집에 의해서 제거되고, 작은 분자량의 물질은 전기분해에 의해서 제거되어진다. 특히 전기응집·분해 공정은 전극의 종류와 반응시간에 따라 효율이 달라지는데 국내의 연구에서도 침출수의 색도를 제거하는데 효과적이었고, BOD 제거율은 1시간의 반응시간으로 스테인레스 전극이 75%, 흑연 전극이 62%, 알루미늄 전극은 3시간의 반응으로 82%의 제거효율을 얻을 수 있었다.

2.2.1.2 생물학적 처리방법

생물학적 처리방법으로는 과거 10여년전까지는 폭기 산화지를 이용한 침출수의 처리가 주로 이용되었으며, 4,400ppm의 MLVSS농도와 10일의 체류시간으로 COD 97%, BOD 99.7% 이상 제거가 가능하였다고 한다.

대부분의 경우 침출수는 생물학적 처리를 위하여 요구되는 인을 충분히 함유하지 못하므로 처리시 인의 보충이 요구된다. 침출수를 장기폭기법으로 처리하면서 영양소의 요구정도를 연구한 결과를 보면 0.16kg BOD/m³·d 의 낮은 부하에서는 세포분해 때문에 BOD : P = 100 : 0.12 의 낮은 비에서도 처리에 지장이 없었으나 1kg BOD/m³·d 의 부하에서는 최소 100 : 0.5의 비율로 인의 공급이 요구되었다(10). 그러나 호기성 생물반응기를 이용한 침출수의 처리에 대한 연구에서 적정한 부하의 조절 실패나 SRT의 변화등으로 인한 거품 발생과 슬러지의 침전성 불량 등이

공정에서 가장 큰 문제점으로 지적되었다. 국내에서도 침출수를 2단 폭기식의 생물학적 공법으로 처리하였으나 처리효율이 양호한 편은 아닌 것으로 보고되었다(11). 이러한 호기성 생물 반응기의 낮은 처리부하 및 난분해성 물질의 처리를 위해 전처리 및 후처리공정으로 물리화학적 처리방법과 병합한 처리 공정이 이용되고 있다. 특히 고농도의 유기물질과 난분해성 물질의 처리를 위해 혐기성 공정이 많이 이용되고 있다.

혐기성 처리에는 CSTR(Continuous stirred tank reactor)이 가장 널리 상용되고 있지만 최근에는 혐기성 반응에 관한 많은 연구와 더불어 고율혐기성 공정의 개발로 인하여 혐기성 공정의 급격한 발전을 이루었다. 이러한 고율 혐기성 반응조에는 2단계 소화(two-phase digestion), AF(Anaerobic filter), UASB(Upflow anaerobic sludge blanket), 그리고 hybrid 반응조의 일종인 UASB와 AF를 결합한 UBF(Upflow bed filter)와 DSF(Down stationary film) 반응조 등이 있다. 이러한 반응조는 재래식 소화조에 비해 짧은 HRT에 비해 높은 슬러지 체류시간을 유지함으로써, 높은 유기물 부하에서도 높은 처리효율을 얻을 수 있다(12).

혐기성 여상은 고품의 매디아에 혐기성 박테리아가 부식되어 유기물을 제거하는 방법으로 수리학적 체류시간과는 별도로 미생물 체류시간을 길게 유지할 수 있어서 처리효율이 CSTR보다 높다. Hybrid system은 UASB와 AF, UASB와 membrane 등을 조합한 방법으로 초기 침출수 발생단계일 경우에도 높은 처리효율을 얻을 수 있다고 알려져 있다.

Carter 등은 혐기성 접촉법이나 혐기성 여상으로 침출수를 처리하여 체류시간을 5.5일, BOD 부하를 $8 \text{ kg BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ 로 하면 80%의 BOD 제거효율을 획득할 수 있었고 Kennedy 등은 침출수를 Upflow blanket filter(UBF)나 Downflow stationary film reactor (DSF)로 처리하는 경우 체류시간을 1.5일, 부하를 $14.7 \text{ kg BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ 로 유지했을 때 COD 제거효율이 DSF에서는 94%, UBF에서는 97%됨을 보고하였다(13,14).

Peter 등에 의한 UASBF를 이용한 침출수 처리 연구에서는 1일 이하의 HRT, 유기물 부하율 10kg/m³로 운전한 결과 85% 이상의 COD 제거율을 얻을 수 있었으며, 9개월 이상 운전했을 때 혐기조 내부벽면에 무기성 물질의 조각이 축적되는 것이 관찰되었다고 보고하였다. 따라서 슬러지 입상 주위에서 금속침전으로 야기된 질량전달 제한으로 슬러지 활동도가 감소하는 것을 방지하기 위해 혐기성 상태하에서 불용해성 침전물을 형성하는 금속의 제거를 위해 전처리가 필요하였다.

2.3 생물학적인 질소제거

생물학적 질소제거는 하수중의 암모니아성질소(NH₄⁺-N)가 호기성 상태에서 *Nitrosomonas*속에 의해 아질산성질소(NO₂⁻-N)로의 산화작용과 *Nitrobacter*속에 의한 아질산성질소의 질산화반응이 이루어져 질산성 질소(NO₃⁻-N)로 산화된다. 질산화반응에서 생성된 질산성질소는 무산소(Anoxic)상태에서 탈질산화반응(Denitrification)이 일어나 질산화합물이 질소가스(N₂)로 환원되어서 질소제거가 이루어진다. 생물학적 질소제거 방법은 물리·화학적 처리보다 처리효율이 높고, 경제성과 유지관리 측면에서 유리함으로 널리 사용되고 있다.

2.4 생물학적인 인제거

하폐수 중에서 발견되는 인의 가장 일반적인 형태는 유기인, 폴리인산염(Na₃(PO₃)₆, Na₅P₃O₁₀, Na₄P₂O₇ 등) 및 정인산염(Orthophosphate: H₂PO₄⁻², PO₄⁻³)이다. 폴리인산염은 수중에서 가수분해되어 점차적으로 정인산염의 형태로 전환된다. 정인산염은 생물학적으로 처리된 인의 약 90%를 차지한다. 인은 미생물의 대사, 성장, 에너지전달 등에 있어서

중요한 생리활성물질이며, 핵산(DNA), ATP, ADP 또는 인산에스테르 등의 형태로 존재한다. 수중에서 인과 관련된 반응을 요약하면 다음과 같다(35).



Hydrolysis, Microbial Disassimilation



Excess of Cohesion



2.4.1 인제거 원리

BPR 기작은 다음의 사실에 기초하고 있다.

- (1) 특정박테리아는 폴리인산염의 형태로 과량의 인을 저장할 수 있다.
- (2) 특정박테리아는 혐기성조건에서 발효에 의해 생성된 기질을 세포내 저장물질로 동화하면서 인을 방출한다.
- (3) 호기성 조건에서는 세포내 저장물질을 산화함으로서 에너지를 얻고 세포내에 폴리인산염을 저장한다.

Comeau 등(1986)이 제안한 *Acinetobacter*에 의한 인제거 모델이 현재 가장 일반적인 인제거 기작으로 받아들여지고 있다. Comeau 등(1986)은 인이 PHB(Polyhydroxybutyrate) 저장을 위한 에너지원으로 사용되는 것으로 설명하고 있으며, acetate는 부분적으로 TCA cycle에 의한 대사 반응을 통해 PHB 합성시 NADH를 제공하는 것으로 설명하였다. Fig. 2.2에서 보는바와 같이 호기성조건에서 PHB는 인의 활발한 섭취와 폴리인산염으로의 전환 반응에 사용되며, 절대혐기성조건에서는 poly-P의 축적균의 성장과 poly-P의 가수분해 및 방출에 의해 생성되는 에너지를

이용하여 저급지방산 등 유기물을 세포내로의 섭취 및 PHB 형태로의 저장 반응이 진행된다(36,37).

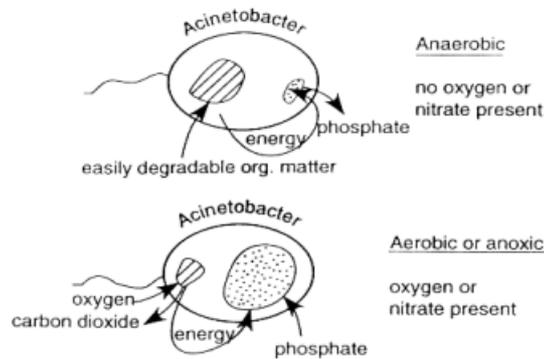


Fig. 2.2 Phosphate transports in and out of bacteria in connection with BPR

2.5 Bacillus sp.을 이용한 질소제거

Bacillus sp.을 이용한 질소제거 공정을 살펴보면 활성슬러지법에서 질산화 → 탈질과정을 경유하여 질소가 제거되는 과정과 다른 과정에 의해 대부분의 질소가 제거되면 아래에 나타낸 3가지의 과정에 의해 질소가 제거된다.

2.5.1 동화작용에 의한 질소제거

추가 탄소원의 공급 없이 바실러스속 세균의 세포합성과 에너지대사에 필요로 하는 글루타민 합성효소의 생산을 위해 암모니아성질소의 형태로 섭취하는 동화작용에 의한 질소제거과정이다.

$\text{NH}_4^+-\text{N} \rightarrow$ 체내흡수(Glutamine & Asparagine \rightarrow Amino Acid)

① 암모니아의 동화작용의 과정에 관여하는 것으로 글루타민, 탈수소효

소, 글루타민합성효소, 알라닌 탈수소 효소, 글루타민-알라닌 아미노기 전이효소가 관여하는 것으로 알려져 있다.

② 글루타민 합성과정은 glutamate dehydrogenase에 의해 암모늄을 α-ketoglutarate로 이동하여 glutamate 합성

③ 글루타민 합성에 의해 암모늄을 glutamate로 이동하여 글루타민을 합성

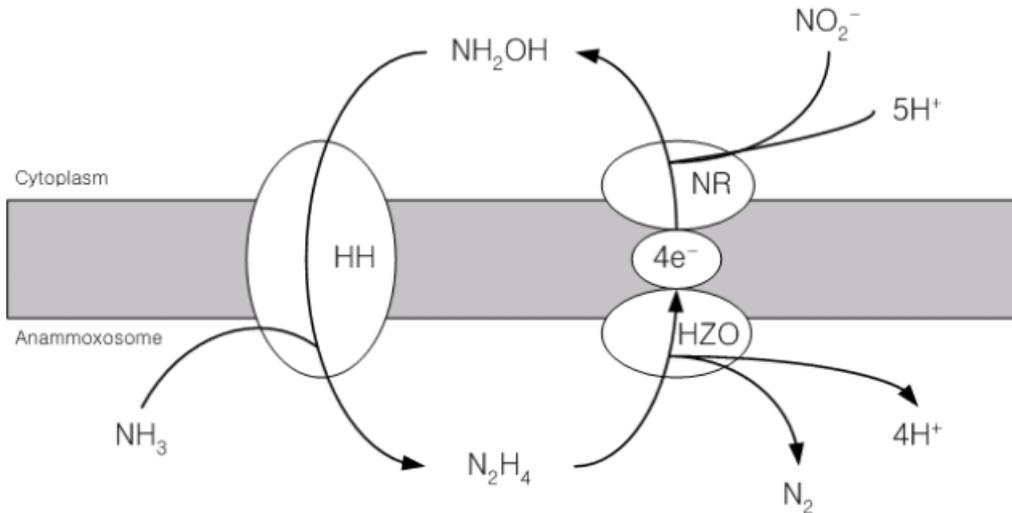
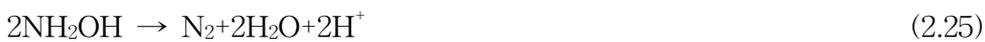


Fig. 2.3 Proposed model for the anaerobic ammonia oxidation (anammox) of Brocadia-like microorganisms. HH: hydrazine hydrolase, HZO: hydrazine oxidizing enzyme, NR: nitrite reducing enzyme

2.5.2 호기탈질에 의한 질소제거

수소 공여체로서 유기물질이나 황 화합물을 환원하여 사용하는 호기탈질에 의한 질소제거



호기성에서 암모니아의 산화는 아래의 Fig. 2.5와 식 (2.27)에 따라 산소가 있는 상태에서 산화가 일어난다. hydroxylamine과 NO는 중간생성물이고 hydroxylamine은 아질산질산염보다 먼저 산화되고 아질산염은 NO₂(N₂O₄)로 산화된다.

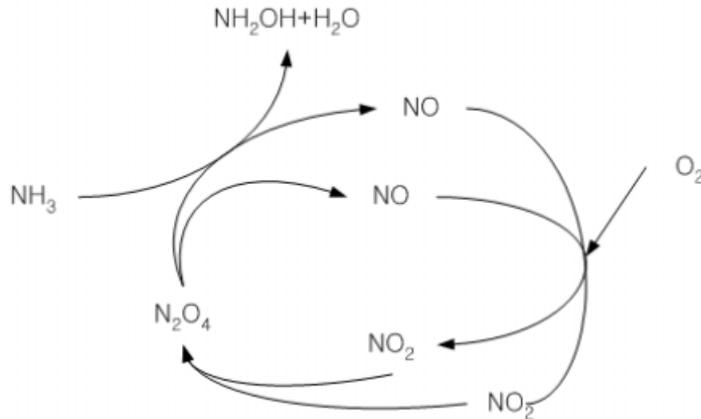
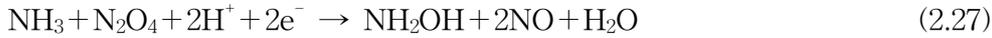
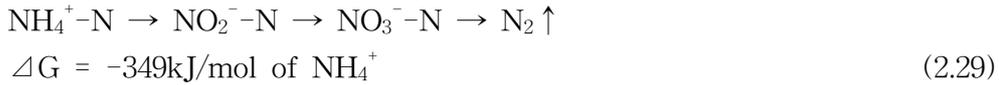


Fig.2.4 NO_x cycle. Hypothetical model of the ammonia oxidation by Nitrosomonas. According to this model, N₂O₄ is the oxidant for the ammonia oxidation. Under oxic conditions oxygen is used to re-oxidize NO to NO₂ (N₂O₄). Hydroxylamine is oxidized to nitrite.

2.5.3 일반적인 질산화 → 탈질 과정에 의한 질소제거

대부분의 유기물이나 질소 및 인이 제거되는 포기조 제1실의 우점종은 바실러스속 세균이지만 이외의 절대적 호기성균인 질산화 미생물 등이 공존하는 상태이므로 질산화과정 → 탈질과정을 경유하여 질소가 제거되는 것을 생각할 수 있다. 그러나 실제현장에서 90%이상의 질소가 제거되는 폭기조 제1실에서 측정된 질산성질소의 농도가 저농도로 측정되는 것으로 보아 *Bacillus* sp.를 이용한 공법에서 질산화 과정 → 탈질과정에 의한 질소제거는 매우 적음을 알 수 있다.



2.5.4 질산화와 탈질에 대한 자유에너지 비교

아래의 Table 2.3는 호기탈질 및 Anammox공정에 의한 질소제거의 자유 에너지를 나타낸 것으로서 일반적으로 질산화를 경유한 탈질과정의 자유에너지 값이 $-349\text{kJ/mol of NH}_4^+$ 을 나타내고 있는 것과 비교하여 호기 탈질과정에 의한 자유에너지 값은 $-316 \sim -435\text{kJ/mol of NH}_4^+$, Anammox과정에 질소제거의 자유에너지 값은 $-297 \sim -358\text{kJ/mol of NH}_4^+$ 로서 일반적인 질산화를 경유한 탈질과정의 자유에너지 값과 비교해 보아도 호기탈질이나 Anammox에 의한 질소제거반응은 불가능하지 않은 것임을 알 수 있다(40).

Table. 2.3 Comparison of free energy about oxidation and denitrification of nitrogen

| Reaction NO. | Reaction | $\Delta G^0(\text{kJ/mol of NH}_4^+)$ | N2 Composition (%)** | |
|--------------|---|---------------------------------------|----------------------|-----|
| 1 | $5\text{NH}_4^+-\text{N} + 3\text{NO}_3^--\text{N} \rightarrow 4\text{N}_2 + 9\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ | -297 | 75 | 25 |
| 2 | $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ | -358 | 100 | 0 |
| 3 | $2\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 + \text{H}_2 \rightarrow \text{N}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ | -435 | 0 | 100 |
| 4 | $8\text{NH}_4^+-\text{N} + 6\text{O}_2 \rightarrow 4\text{N}_2 + 12\text{H}_2\text{O} + 8\text{H}^+$ | -316 | 0 | 100 |
| 5 | Observed | | 98.2 | 1.7 |

※ 15NH_4^+ , 14NO_3^- 방사성 동위원소를 이용한 탈질 가스내의 조성비를 예측한 값.

※ 실험값은 무산소상태에서 NH_4^+-N 과 NO_3^--N 을 사용한 DATA

2.6 *Bacillus* sp.를 이용한 인 제거

- 1) 물질대사에 의한 제거 (핵지질, 핵산, 단백질의 구성성분으로 섭취)
- 2) 포자화 과정으로 진행될 때 인산염 보충 (알칼리성 Phosphatase 유전자를 발현시킴)
- 3) 바실러스속 세균의 고균체 농도에 의한 인의 다량제거 (일반적인 활성슬러지법과 비교하여 10~100배의 고균체의 농도를 유지함으로써 P의 다량제거)

2.7 *Bacillus*의 일반적인 특징

생물계는 동물, 식물, 미생물로 분류되며 다시 미생물은 진핵생물과 원핵생물로 분류된다. 진핵생물은 원생동물, 조류, 균류(점균류, 진균류)가 있고 원핵생물은 남조류, 홍색세균, 녹색세균의 광합성 세균과 비광합성 세균, 바이러스로 분류된다. 여기서 *Bacillus*는 원핵생물 중에 비광합성 세균에 속하며 그람양성 세균으로서 독립적 또는 사슬형태로 존재하고 형태상으로 간균 또는 원형으로 $0.5 \times 1.2 \sim 2.5 \times 10 \mu\text{m}$ 크기에 속한다.

다른 분류상의 큰 특징은 내생포자를 형성하는 것으로 형태는 원통형, 타원, 계란, 원형, 콩, 팔, 바나나형이 있고 위치는 중앙, 측면중앙, 측면말단에 위치하고 포자 형성시 모세포를 부풀게 하는 것도 있다. 바실러스균은 모양이 단간균 형태이고 불리한 환경이 되면 포자를 만드는 그람 양성 통성 혐기성균이다.

1) 형태학적 특징 (Rivka, 1998)

독립적 또는 사슬형태로 존재하며, 간균 또는 원형으로 $0.5 \times 1.2 \sim 2.5 \times 10 \mu\text{m}$ paracrystal 형성하기도 한다. 내생포자를 형성하는데 형태는 원통형, 타원, 계란, 원형, 콩, 팔, 바나나형이 있고 위치는 중앙, 측면 중

양, 말단부에 위치한다. 포자 형성시 모세포를 부풀어 오르게 하는 것도 있으며, 포자낭 팽창 없이 타원, 포자낭을 팽창시키는 타원형, 포자낭 팽창시키는 구형 등의 형태가 있다. 그리고 *Bacillus*의 세포벽의 구성 성분은 murein 형태이며 막낭을 형성한다(41).

2) 생화학적 특성

유기폐수 성분의 분해성 및 자화성이 있으며 육편, 단백질을 분해하며 전분을 포도당으로 분해하며 또한 지방과 취기성분을 분해하는 특성이 있다. 유기폐수 중의 Ammonia, H₂S, Amine류를 직접 섭취 또는 분해·자화한다. 또한 *Bacillus* sp.는 카탈라아제와 superoxid dismutase 라는 강한 가수분해 효소 등을 생산하여 다당류 핵산, 지질을 분해해서 전자공여체로 사용하게 하며 bacitraction, polymyxin, tyrocidin, gramicidin, clrauln 등의 항생물질을 분비함으로써 대장균 및 일반세균 등을 용균, 사멸시킴으로 인하여 처리세균의 우점화에 관계가 있는 것으로 추정되며, 처리수를 별도의 소독처리를 하지 않고 방류시켜도 무방하다.

그리고 탄소원으로서 당, 유기산, 알콜, 질소원으로서 암모니움을 포함하는 폐수 속에 잘 자란다. 또한 슬러지 중에 함유된 질소 및 인은 포자화된 세포에 존재함으로 침전지나 슬러지 저장조 등에서 용출될 우려가 없으며 세포벽은 흡착성이 있는 점착물질로 덮여있기 때문에 흡착, 응집이 잘 되므로 형성된 침전물은 침전이 양호하다.

2.7.1 *Bacillus* sp. 의 종별 분리 및 특성

2.7.1.1 *Bacillus* sp. 종류

Bacillus sp. 는 산소의 요구도와 산의 생성 및 포자의 형태, 포자 생

성시 모세포 부풀기 등의 특성에 따라 다음과 같이 크게 5개의 그룹으로 나뉘어 질 수 있다.

Group 1

B. alvei, *amylolyticus*, *azotofixans*, *larvae*, *macerans*, *polymyxa*, *validus*, *pilvifaciens*, *pabuli* 모든 종은 통성혐기성이고 산소의 부재하에서 더 잘 자라며, 여러 가지 당으로부터 산을 생성한다. 내성포자는 타원체형이고 모세포는 팽창시킨다.

Group 2

B. amyloliquefaciens, *anthracis*, *flexus*, *licheniformis*, *megaterium*, *subtilis*, *thuringiensis*, *laterospurs*, *mycoides* 모든 종은 포도당을 포함한 여러 가지 당으로부터 산을 형성하며, 산소의 부재시에도 성장하고 특히 질산염 존재시 잘 자란다. 포자는 타원형이지만 모세포를 팽창시키지 않는다.

Group 3

B. brevis, *azotoformans*, *gordonae*, *badius* 이들은 절대 호기성이며, 당으로부터 산을 생성하지 않는다. 타원형 포자를 형성하고 모세포를 팽창시킨다.

Group 4

B. fusiformis, *marinus*, *sphaerius*, *globisporus*

타원형의 포자를 생성하고 모세포를 팽창시키며, 세포벽에는 L-lysine 또는 ornithine이 포함되어 있다. 모든 종은 절대 호기성이지만 몇 가지 당으로부터 산을 생성할 수 있는 능력이 있다.

Group 5

B. coagulans, stearothermophilus, thermodenitrificans, thermoruber

호열성 종으로 50℃ 이상에서 잘 자라며 생리학적, 형태학적으로 이종이지만 거의 구형 포자를 생성하고 모세포를 팽창시킨다.

2.7.1.2 *Bacillus* 종별 특징

(1) *Bacillus substilis*

글루코스를 제외한 질산염 복합 배지에서도 제한된 혐기성 성장을 보이며, pH 5.8~8.5에서 넓은 생육 분포도를 보이며 내성포자는 폭넓게 분포하며 난형이다. 탄수화물로 구성된 점액을 형성하며, 배지에 검정색 색소를 형성하는 것도 있다. 주로 당을 소비하고 성장하고 독특한 발효를 하며, 발효에 의하여 낙산, 글리세롤, 소량의 락틱산, 에타놀 등을 생성한다.



(2) *Bacillus brevis*

최소 영양 인자로 아미노산을 첨가해야 하지만 비타민은 요구성은 없다. 대개 토양 및 식물에서 분리된다.

(3) *Bacillus cereus*

*cereus*균은 토양세균의 일종으로 사람의 생활환경을 비롯하여 먼지, 오수 및 하천 등의 자연계에 널리 분포되어 있으며, 각종 식품에서도 다수 분리되고 있다. 이 균은 호기, 혐기성 조건에서도 증식하는 포자형성 간균으로 야채, 곡류 등의 농작물 및 식품원료 내에서는 주로 포자상태로 존재한다. 그러나 식품으로서 제조, 가공, 조리 후 온도, 수분, 영양 등이

호조건이 되면 왕성하게 증식하여 부패를 일으킨다는 것이 오래 전부터 알려져 있다.

B.cereus 는 *Bacillaceae*과 *Bacillus*속에 속하는 그람양성 간균으로 편모를 가지며 포자는 균체에 중앙에 존재한다. 유사균으로 *B.anthraxis*, *B.thuringiensis* 및 *B.megaterium* 등이 있다. 이들 균중에서 *B.thuringiensis* 는 *cereus*와 매우 유사하지만 세포질 내에 결정체 독소를 형성하므로 구별할 수 있다. 또한 본 결정체 독소는 살충성 독소이기도 하므로, 생물농약으로 야채, 과일 등에 살포하고 있다.

양단은 직각으로 보통 사슬형태를 이룬다. $(1.0\sim 1.2)\times(3.0\sim 5.0)\mu\text{m}$ 의 간균으로 주모성 편모를 가지고 운동성이 있다. 협막은 없으며, 균체 중앙에 타원형의 아포를 형성한다. 호기성으로 최적 발육온도는 $28\sim 35^{\circ}\text{C}$, 보통 한천배지에서 잘 발육하며, 집락 주변은 불규칙하며, 회백색의 큰 R형 집락을 형성한다. 또한 *cereus*는 막대 모양의 형태를 가지며 hemolysin을 형성한다. protolytic 효소와 phospholipase를 분비하며, 필수 아미노산을 최소영양인자로 요구하지만 비타민 요구성은 없다. 대개 음식에서 주로 발견되며, 포자는 넓게 분포한다.

(4) *Bacillus criculans*

배지에 탄수화물 첨가시 높은 성장률을 보이며 다소 약하지만 셀룰로오스 분해능이 있다. $\text{NH}_4\text{-N}$ 첨가시 잘 자라며 토양에 많이 생육한다.

(5) *Bacillus coagulans*

형태학적 다양성이 크며, 포자낭이 계란, 막대형이면서 모세포를 부풀리지 않는 것과 계란형으로 모세포를 부풀게 하는 것이 있다. 최적 pH는 6 근처이고 균종(strain)에 따라 4.0~5.0에서도 성장한다. 포자는 토양에서 분리하기 어려우나, 산성음식 등에서 분리하기 쉽다.

(6) *Bacillus megaterium*

포자는 원형에서 가느다란 형까지 다양하다. 질소원과 탄소원으로서 질산성 질소 및 글루코오스를 이용하며, 암모니아성 질소 부재 시에도 증식한다.

(7) *Bacillus pumilus*

영양 인자로 biotin이나, 아미노산을 필요로 하며, 발아는 흔하게 토양에서 일어나고 도처에 존재한다.

(8) *Bacillus stearothermophilus*

65°C에서도 성장할 수 있으며 산에 대해서 어느 정도 내성이 있다. 토양, 온천, 사막모래, 해양수, 바다, 침전물, 음식물, 비료 등에서 분리된다.

(9) *Bacillus thuringiensis*

곤충에 대한 병원체이며 단백질 paracrystal을 곤충 세포에 내부에 생성한다.

(10) *Bacillus licheniformis*

강력한 탈질소 세균으로서 질산의 존재 하에서는 비발효성 유기기질을 이용하여 성장할 수 있다.

(11) *Bacillus polymyxa*

단당류, 전분, 펙틴을 분해, 탄소원으로 이용하여 성장한다. *Bacillus polymyxa* 는 부타놀, 에탄올, 이산화탄소, 수소를 생성한다.

(12) *Bacillus macerans*

에탄올, 아세톤, 아세트산, 포름산, 이산화탄소, 수소를 생성한다.

(13) *Bacillus pasteurii* 및 *Bacillus sphaericus*

다른 종과 달리 세포벽 펩티도그리칸은 다른 호기성 포자 형성균들과 화학적으로 차이가 있으며, 호흡대사에서의 기질로는 아미노산과 유기산을 이용한다. 이 균은 발효능이 부족하고 호흡 에너지원으로서 탄수화물을 효율적으로 이용하지 못한다.

(14) *Bacillus fastidiosus*

이 균은 절대 호기성으로서 푸린, 요산을 산화적으로 분해하며 이 물질을 유일한 탄소원, 에너지원 그리고 질소원으로 이용하여 성장한다. 실험상 다른 유기 화합물 중에서 요산 분해 경로에서의 중간체만을 유일한 탄소원과 에너지원으로 사용할 수 있다.

(15) *Bacillus anthracis*

1876년 Koch에 의하여 분리되었으며, 이어서 Pasteur(1881)가 약독생균에 의하여 가축용 탄저 백신의 실용화에 성공하였다. (1.0~1.2)×(3~10) μm 의 크기이며, 병원균 중에서 가장 크다. 양쪽 끝은 대나무 마디처럼 직각으로 절단된 형태이다. 생체 내에서 단독 또는 짧은 사슬이지만, 배양균은 긴 사슬을 형성한다. 균체 중앙에 난원형의 포자를 형성한다. 호기성으로 한천배지 표면의 집락은 표면이 거칠고, 액체 배지에서는 액면에 박막을 만들고, 관 바닥에 긴 실 모양의 침침이 생긴다(42,43).

Table 2.4 Denitrifying bacteria and their taxonomic affiliations.
(After Zumft, 1992)

| Taxon | Habitat | Comments |
|---|-------------------|--|
| Archaea | | |
| Several extreme halophiles including <i>Halobacterium mediteranei</i> | solar saltern | Produces N ₂ from NO ₃ ⁻ or NO ₂ ⁻ |
| Proteobacteria | | |
| Subclass-α | | |
| Phototrophic bacteria like <i>Rhodospirillum rubrum</i> | sewage | Not all strains denitrifying |
| Budding bacteria like <i>Hyphomicrobium</i> spp. | water | Uses C-1 compounds as energy sources |
| Helical bacteria like some <i>Azospirillum</i> spp. | soil | Not all strains denitrifying |
| Gram-negative aerobic rods like <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Rhizobium</i> spp. | soil | Some produce N ₂ O which is then used as an e ⁻ acceptor by others N ₂ and N ₂ O produced |
| Gram-negative cocci and coccobacilli like <i>Gluconobacter</i> spp. and <i>Paracoccus denitrificans</i> | sewage and soil | |
| Subclass-β | | |
| Gram-negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria including <i>Pseudomonas</i> spp. | soil and water | |
| Gram-negative cocci like <i>Neisseria</i> spp. | animals | Some reduce NO ₂ to gas |
| Subclass-γ | | |
| Gram-negative aerobic bacteria like <i>Moraxella</i> spp. | commonly animals | NO ₃ ⁻ and NO ₂ ⁻ reduced but not always to gas |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | range of habitats | Metabolically diverse |
| <i>Zoogloea ramigera</i> | sewage | NO ₃ ⁻ reduced to N ₂ |
| Gram-negative chemoautotrophs like <i>Beggiatoa alba</i> | fresh water | Sulphide-dependent reduction of NO ₃ ⁻ to N ₂ |
| Flavobacterium group like <i>Empedobacter</i> sp. | sewage | Not understood |

| Taxon | Habitat | Comments |
|--|------------------------------------|--|
| Gram-positive bacteria | | |
| Endospore-forming rods like many <i>Bacillus</i> spp., including some halophiles | range of habitats including sewage | Metabolically diverse |
| Non-spore-forming bacteria like <i>Tsukamurella paurometabola</i> | humans | NO ₂ ⁻ utilized by some isolates |

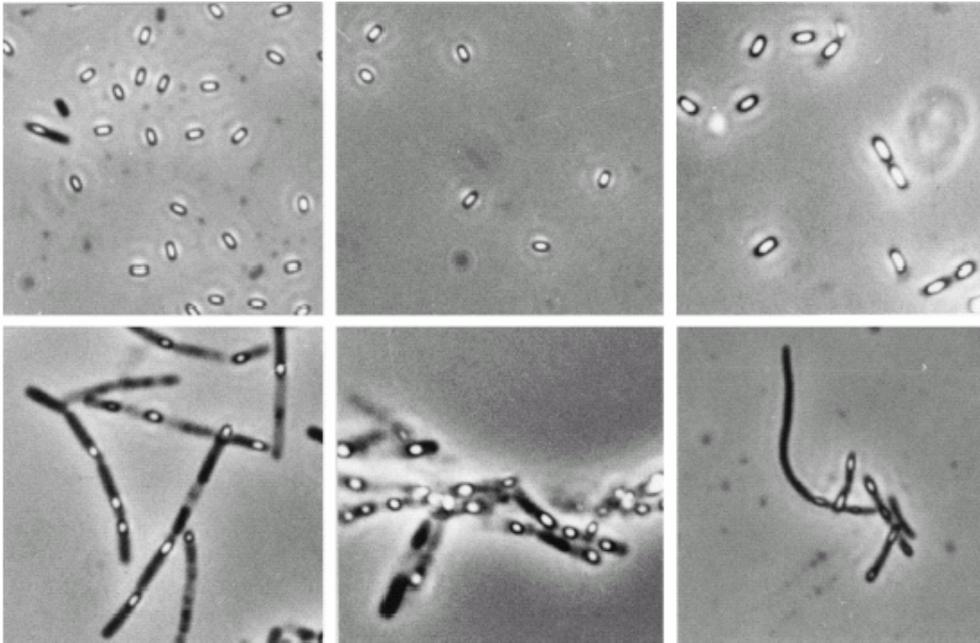


Fig.2.4 Sporulation. Phase-contrast microscopy of cultures grown in Difco sporulation medium examined at approximately 12 h after the initiation of sporulation is shown. Clockwise from top left, *B. subtilis* PY79, Lactipan *plus*, Subtyl, Biosubtyl "Dalat," Bactisubtil, and Domuvar.

Table 2.5 Morphology of Bacillus species (Sneath,1989)

| Characteristics | Width of rod(μm) | Length of rod(μm) | Sporangium swollen | Spore shape | Spore position |
|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|-------------|----------------|
| <i>B.subtilis</i> | 0.7~0.8 | 2~3 | - | E | C |
| <i>B.acidocal-darius</i> | 0.9~1.1 | 2~3 | + | E | T |
| <i>B.alcalophilus</i> | 0.7~0.9 | 3~4 | - | E | T |
| <i>B.alvei</i> | 0.5~0.8 | 2~5 | + | E | C/T |
| <i>B.anthraxis</i> | 1.0~1.2 | 3~5 | - | E | C |
| <i>Bazotoformans</i> | 0.9~1.0 | 3~10 | + | E | T |
| <i>B.bodius</i> | 0.8~1.2 | 1.5~4 | - | E | C/T |
| <i>B.brevis</i> | 0.6~0.9 | 1.5~4 | + | E | C/T |
| <i>B.cereus</i> | 1.0~1.2 | 3~5 | - | E | C |
| <i>B.circulans</i> | 0.5~0.7 | 2~5 | + | E | C/T |
| <i>B.coagulans</i> | 0.6~1.0 | 2.5~5 | d | E | C/T |
| <i>B.fastidiosus</i> | 1.5~2.5 | 3~6 | - | E | C/T |
| <i>B.firmus</i> | 0.6~0.9 | 1.2~4 | - | E | C |
| <i>B.globisporus</i> | 0.6~1.0 | 1.5~5 | + | S | T |
| <i>B.insolitus</i> | 1.1~1.5 | 1.1~2.5 | - | S | C/T |
| <i>B.larvae</i> | 0.5~0.6 | 1.5~6 | + | E | C/T |
| <i>B.laterosporus</i> | 0.5~0.6 | 1.5~6 | + | E | CL |
| <i>B.lentimobus</i> | 0.5~0.7 | 1.8~7 | + | E | C/T |
| <i>B.lentus</i> | 0.6~0.9 | 1.2~4 | - | E | C |
| <i>B.licheniformis</i> | 0.6~0.8 | 1.5~3 | - | E | C |
| <i>B.macerans</i> | 0.5~0.7 | 2.5~5 | + | E | T |
| <i>B.macquariensis</i> | 0.5~0.7 | 2~6 | + | E | T |
| <i>B.marinus</i> | 0.9~1.2 | 2~4 | + | E | T |
| <i>B.magaterium</i> | 1.2~1.5 | 2~5 | - | E | C |
| <i>B.mycoides</i> | 1.0~1.2 | 3~5 | - | E | C |
| <i>B.pantothenticus</i> | 0.5~0.7 | 2~5 | + | E&S | T |
| <i>B.pasteuri</i> | 0.5~1.2 | 1.3~4 | + | S | T |
| <i>B.polymyxa</i> | 0.6~0.8 | 2~5 | + | E | T |
| <i>B.popilliae</i> | 0.5~0.8 | 1.3~5.2 | + | E | C |
| <i>B.pumilus</i> | 0.6~0.7 | 2~3 | - | E | C |
| <i>B.schleglii</i> | 0.6~0.8 | 2.5~5.8 | + | S | T |
| <i>B.spaericus</i> | 0.6~1.0 | 1.5~5 | + | S | T |
| <i>B.stearothermophilus</i> | 0.6~1.0 | 2~3.5 | d | E | T |
| <i>B.thuringiensis</i> | 1.0~1.2 | 3~5 | - | E | C |

E : Elliposoidal T : Terminal C : Central CL : Central and lateral

- : 90% \geq negative d : 11~89% positive + : 90% \geq positive

2.7.2 포자

어떤 종류의 세균은 성장할 때 불리한 환경조건에서 포자를 형성하며 포자는 균체가 죽어도 살아 남으며 외부 환경이 좋아지면 다시 발아하여 영양형 균체를 형성한다. 포자는 100℃로 가열하여도 죽지 않으며 건조, 동결, 소독제, 방사선 조사 등 물리 화학적 자극에 대해서도 저항력이 강하므로 의학 및 간호학 분야에서 주의를 기울이는 존재이다. 진균에서 형성되는 포자는 외생포자라 하며 출아에 의해 생기고 세균에서 형성되는 포자는 균체 내부에 생기기 때문에 내생포자라고 한다. 균체내의 원형질로부터 단 하나의 세포가 생기므로 이는 증식기관이 아니고 재생기관이라고 할 수 있다. 포자를 형성하는 균은 그 위치에 따라 중앙성 포자형성균(central spore-forming *Bacillus*), 단재성 포자형성균(subterminal spore forming *Bacillus*), 편재성 포자형성균(subterminal spore-forming *Bacillus*)으로 나눌 수 있다. 이와 같이 포자는 균체에서의 위치, 크기, 모양으로 균종을 구분하는데 도움이 된다. 포자는 건열 멸균 또는 고압 멸균을 해야 죽는다(44).

이밖에 100℃로 3일간 간헐멸균으로 죽일 수 있다. 비병원성균으로 *Bacillus subtilis* 병원성 균으로 내생포자 형성균은 그람양성간균인 *B. anthracis*, *Clostridium tetani*, *C. perfringens*, *C. welchii*, *C. botulinum*, 그람양성구균인 *Sporosarcina* 등이 있다.

1) 포자형성

영양조건이 불리하게 되면 포자형성 과정이 시작되나, 질소 또는 탄소원이 고갈이 가장 중요한 형성인자가 된다. 이 같은 질소 또는 탄소원의 결핍결과로 대수증식이 정지된, 배양에서는 포자형성이 대량으로 이루어진다.

포자형성 과정에서는 여러 가지 영양세포성분이 소실되므로 많은 새로운 구조물, 효소 및 대사산물이 산출된다. 이 같은 변화는 분화과정에서도 이루어진다. 포자형성과 포자의 최종적 조성을 결정하는 일련의 유전자가 활성화되어 영양 세포의 기능을 지배하는 유전자 계열이 활성을 잃게 된다. 이러한 변화는 RNA polymerase의 특이성에 영향을 미친다. 포자형성과정은 매우 복잡하다. 생화학적으로 적어도 12단계의 차이가 나며 적어도 30개의 오페론이 관여한다. 이 과정에서 어떤 세균은 펩타이드성 항생제를 방출하여 포자형성과정을 조절한다.

형태학적으로 보면 세포막이 내부로 향하여 발육함으로써 한쪽 핵이 결리되어 포자 형성을 시작한다. 세포막의 발육과정은 양쪽에서 막이 접혀 들면서 이중 구조막을 형성하게 되는데, 그 바깥쪽 표면은 마치 세포 피막 물질에 의한 세포벽 합성과 비슷하다. 막이 처음에 접혀 들어간 곳, 즉 성장점은 점차 세포 끝을 향하여 이동하며 포자를 둘러싸는 모양이 된다. 이렇게 하여 두 겹의 포자 막은 세포 피막 물질을 형성하는 독특한 층 합성을 활성화한다. 즉 평형으로 마주보고 막과 막 사이에 포자벽과 피질이 생기고 막 외측에는 외피와 exosporium이 생긴다. 코어가 형성되면 균 원래의 효소는 소실되고 포자 특유의 구성물질로 대체된다.

2) 내생포자의 성장

(1) core : 코어는 포자의 원형으로 핵, 단백질 합성 기구 및 당분해에 의한 에너지 생산계 등을 가지고 있다. 호기성균의 경우에는 시토크롬이 없고 이들 포자는 flavoprotein에 의한 단축된 전자전달 경로를 가지고 있다. 어떤 종류의 영양세포 효소는 증가되어 있고 수종의 특유한 효소가 생성된다. 발아를 위한 에너지는 ATP보다 오히려 3-phosphoglycerate에 저장된다. 포자의 열에 대한 저항성은 일부 탈수 상태에 의한 것이고 일부는 리신 생합성 경로의 중간 대사산물에서 생기는 대량의 칼슘

dipicolinate에 의한 것이다(44,45).

(2) 포자벽 : 포자의 내벽을 둘러싸고 있는 가장 내측을 포자벽이라고 한다. 그것은 정상 peptidoglycan을 함유하고 있어 발아할 때 영양세포의 세포벽이 된다.

(3) 피질 : 피질은 포자 피포 물질 중에서 가장 두꺼운 층이다. 포자벽의 peptidoglycan과는 다른 구조를 한 peptidoglycan을 가지고 있다. 즉 피질의 peptidoglycan은 라이소자임에 대하여 극히 감수성이 강하다. lysozyme에 의한 자가용해가 포자 발아에 중용한 역할을 하고 있다.

(4) 포자각 : 포자각은 분자내 이황화물 결합이 많은 케라틴 모양의 단백질로 이루어져있다. 이 층은 투과성이 없기 때문에 포자는 항균성 물질에 대하여 비교적 저항성이 강하다.

(5) exosporium : exosporium은 소량의 당질을 함유하는 기질 단백질이다.

3) 발아

발아과정은 활성화, 시작 및 성장의 3단계로 이루어져 있다.

(1) 활성화 : 발아에 유리한 환경에 놓이면 먼저 포자각을 상해하는 인자에 의하여 활성화되지 않는 한 포자는 발아되지 않는다. 포자는 휴면상태에서 자극하는 활성화하는 인자로는 열, 찰상, 유리 sulfhydryl 기를 가진 화합물 등이 있다.

(2) 시작 : 환경조건이 양호한 포자가 활성화되면 포자가 시작된다. 각 균종은 각각의 작동인자를 인식한다. 작동인자가 결합하면, 자가용해효소가 활성화되어 cortex peptidoglycan을 분해한다. 물이 흡수되어 칼슘 dipicolinate가 유리되며, 여러 가지 포자 성분이 가수분해 효소에 의하여 분해된다.

(3) 성장 : 외피와 외층이 분해되어 영양세포가 탈출하게 된다. 이어서

활발한 생합성이 시작되며 세포분열을 계속된다.

2.7.3 그람 염색

그람음성과 그람양성 세균으로 구분할 수 있다. 이들 두 균과 세포벽이 없는 *nollicutes* 등이 진정핵세균류를 구성한다. 그람음성균은 그람양성균보다 다양하며 *nollicutes*균이 가장 적다. 두 유형의 세포벽의 얇은 절편을 전자현미경으로 관찰해보면, 그람양성세균의 세포벽은 약 10nm에서 80nm 정도의 두께로 거의 동일한 형태를 나타내는데 반해, 그람음성세균의 세포벽은 쉽게 구분되는 두층으로 구성되어 있고, 두층 모두 그람양성세균의 세포벽보다 얇다. 그람염색 반응은 계통발생학적으로 서로 유연이 있는 균종들 사이에 여러 가지 형태학적 특성과 서로 긴밀한 관련이 있으므로 세균분류 지표가 된다.

그람염색은 그람음성균과 그람양성균을 감별하기 위함이며 그람양성균은 크리스탈 바이올렛(crystal violet)의 청색 또는 보라색으로 나타나고 그람음성균은 Sarfranine 으로 염색되므로 분홍색 또는 붉은색으로 나타난다.

그람양성균은 염색한 세균을 알코올 탈색제로 탈색해도 크리스탈 바이올렛 또는 메틸알콜-요오드 복합물이 세포속에 그대로 멈춰 있게 된다. 반대로 그람음성균은 염색한 후 알콜에 의하여 완전히 탈색된다. 색소-요오드 복합물을 탈색액으로 처리했을 때 그대로 균체 안에 멈춰 있게 하는 것은 세포벽의 역할이다.

이 염색과정에서 성장중인 세포를 다룬다는 매우 중요한데 그 이유는 그람양성세균인 *Bacillus* sp.는 성장이 멈춘 후에는 크리스탈 바이올렛-요오드 복합체를 형성하는 능력을 상실하기 때문이다. 그러므로, 그람반응의 결과는 어느 정도 세포의 생리적 상태에 따라 다를 수 있으며, 또

한 진정핵 세균류의 세포벽의 화학적 조성 및 미세구조와 연관되어 있다. 화학적으로도 그람양성세균류는 세포벽의 주요 구성성분으로 peptidoglycan을 함유하고, 이에 다당류 및 특이한 중합체인 teichoic acid가 결합되어 있다. 반면 그람음성세균의 세포벽의 내층은 매우 얇은 peptidoglycan으로 되어있다. 세포막과 세포막 이외에도 원핵세포들은 막 낭 또는 점액층의 외층으로 둘러싸이기도 한다.

그람양성의 대표적인 미생물인 *Bacillus*, *Clostridium* 속의 세균은 주로 포자를 형성한다. 포자염색의 목적은 외부 환경이 불리하면 형성하는 포자의 크기, 모양, 형태를 염색하여 관찰하기 위함이다. 포자는 간단하게 염색되지 않는 세포 부유액 중에서 굴절성의 세포 내소체로 관찰될 수 있고, 또 보통 염색법으로 염색한 세포 중에서도 무색의 영역으로 관찰될 수 있다. 포자벽은 비교적 비투과성이지만, 표본을 가열하면 색소가 침투하게 된다.

한번 염색되면 알콜 처리에 의하여 탈색되지 않는다. 그래서 탈색된 영양세포에 대하여 대조 염색을 하게된다. 포자의 염색에는 보통 malchite green 또는 석탄산푸크신이 사용된다(46).

2.8 *Bacillus* sp.를 이용한 침출수 처리 공정

2.8.1 B3공정

B3 system(Bio Best Bacillus)은 4개조로 구성이 되어 있다. 1실에서는 DO를 0.5~1.0mg/ℓ 로 주입하고 나머지 2, 3, 4 실에서는 무산소 상태에 가깝게 유지시키면서 점감포기를 하며 50~200%의 슬러지를 반송을 하고 4실에서 1실로 내부반송을 한다(47). *Bacillus* 균을 우점배양하기 위해서 점감포기를 하였고, 점감포기로 인해 절대 호기성균의 성장을 억제

하고 용존산소가 낮은 상태에서도 잘 자랄 수 있는 통성균인 *Bacillus* 균만이 번식을 하게 한다. 또한 유기물, 질소, 인이 제거되어 빈영양상태가 되고 거의 혐기성 상태가 됨으로써 *Bacillus* 균의 성장을 억제하여 *Bacillus* 균이 포자를 형성하게 되고 침전지로 유입되어 고액분리가 쉽게 일어난다. B3 시스템에서 순환은 내부순환과 슬러지 반송으로 이루어지며 내부순환의 이유는 포자막이 굳기 전에 순환시킴으로서 발아를 용이하게 하여 발아가 진행되면서 포자막이 두꺼운 침전지 반송슬러지 속의 포자의 발아속도를 촉진시켜 반응시간을 단축시킨다.

고농도로 방출된 *Bacillus* sp. 가 질소 및 인 성분을 섭취하여 세포성분으로 합성함으로써 탈질, 탈인이 이루어지고, 포자화 되면서 침강성이 우수하며 부패에 의한 질소, 인의 용출이 전혀 없는 고도처리방법이다.

2.8.2 B3 반응조에서 *Bacillus* sp.의 성장조건

B3 반응조의 1실에서는 DO는 $1.0\text{mg}/\ell$ 정도를 유지한다. DO가 $1.3\sim 2.0\text{mg}/\ell$ 이상일 때는 생물학적 질산화가 일어나기 시작하여 DO 소모량이 $4.57\text{kg} \cdot \text{O}_2/\text{kg} \cdot \text{N}$ 으로 되어 많은 산소를 요구하게 된다. 그러나 DO는 $1.0\text{mg}/\ell$ 이하인 경우 산소섭취를 둘러싼 질산화 미생물과 종속영양 미생물간의 경쟁에서 질산화 미생물이 타격을 받게 된다. 또한 무산소 상태에서 인 방출 저해의 직접적인 원인을 유기물 경쟁력 차이로 보는 것이 아니라 질산성 질소가 산소와 마찬가지로 전자 수용체 역할을 하기 때문에 방출이 저해된다. 즉 질산화가 이루어지지 않기 때문에 *Bacillus* sp.가 섭취하는 아민기나 암모니아성 질소 및 암모늄염 상태가 그대로 유지되면서 질소제거가 이루어진다. 또한 생물학적인 섭취는 DO가 $0.1\text{mg}/\ell$ 에서 폴리인 합성이 시작되면서 $0.5\text{mg}/\ell$ 에서 인 섭취가 최대로 된다고 알려져 있으며, 인 제거에 방해가 되는 질산성질소에 대한 방해 및

최적의 DO가 유지되기 때문에 인 제거 효율도 더욱더 크다. 또한 균체 농도가 높기 때문에 이들 영양염류에 대한 요구량도 더욱 더 크다. *Bacillus* sp.의 대부분은 중온성균으로 최적 생육온도는 20~45℃ 범위이다. 실험에 의한 온도는 11~50℃로서 적용 범위가 기타생물에 비하여 폭이 넓다(48).

Ⅲ. 실험장치 및 방법

3.1 실험장치

본 실험에 사용된 Pilot plant 장치는 Fig. 3.1에 보인 바와 같이 연속식 처리장치이다. Pilot plant는 하루 1m³/day를 처리하고 각 장치의 용량은 저장조가 1.72m³, 제 1 반응조 18.43m³, 제 1 침전조 0.81m³, 제 2 반응조 1.69m³, 제 2 침전조 0.36m³이며 각 반응조에는 디스크 산기관을 설치하였고 반응조 원수이송 및 내부순환, 슬러지 반송을 정량 주입 펌프를 사용하였다. 유입된 원수는 전처리 단계에서 이물질과 부유물질을 제거하여 유량조정조에서 반응조에 유입시켜서 *Bacillus* sp.를 이용해서 처리한다. 후단처리 단계에서는 화학적 처리와 활성탄 및 사여과기를 거쳐 최종방류된다.

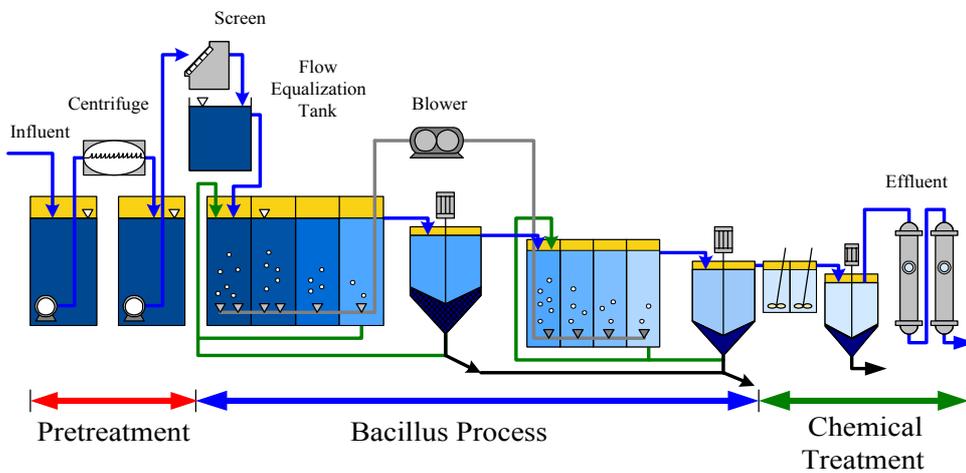


Fig. 3.1 Flow scheme of the process for treating Landfill Leachate



Fig. 3.2 Picture of Pilot plant for treating Landfill Leachate

3.2 침출수 성상

연구에 사용된 침출수는 B시 생활쓰레기 매립장인 S 위생매립장에서 발생하는 침출수를 사용하였다. 그리고 S 위생매립장은 도시 생활쓰레기만을 매립하고 우수와 침출수가 분리되어 저류조로 유입된다.

Bacillus sp.를 우점배양해서 침출수 처리를 함에 있어 원수에 대한 수질분석이 중요한 부분을 차지한다. 이는 생물학적으로 침출수를 처리함에 있어 고농도 유기물 및 독성 물질이 많이 함유된 침출수에서는 더욱 필수적인 요소라 할 수 있다. Table. 3.1에서 매립지 침출수의 일반적인 성상과 S 위생매립장 침출수의 수질을 비교하였다.

S 위생매립장은 매립년령이 5년이나 지난 안정화된 침출수가 발생하며 pH는 7.5~8.0으로 높고, 유기물의 농도는 10배 이상 감소하였고 생물학적 처리공정 적용의 지표인 BOD/COD는 0.5 였다.

Table. 3.1 Characteristics of Landfill Leachate

| Landfill Section | Domestic | | | Ehing | Chisteneen | Robinson |
|---------------------------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|
| | Kimpo | Nanjeedo | Sanggok | | | |
| DO | 5.8~7.5 | 7.4~7.6 | 7.5~8.0 | 5.3~8.5 | 4.5~9.0 | 6.2~7.4 |
| BOD | 500~16000 | 580~650 | 971~12805 | 100~90000 | 20~40000 | 2~8000 |
| COD _{Cr} | 1500~22000 | 1300~1350 | 3760~22700 | 150~100000 | 500~60000 | 66~11600 |
| COD _{Mn} | 300~2300 | | 570~1500 | | | |
| SS | 80~900 | | 275~4880 | | | |
| Cl ⁻ | 200~4900 | 3540~4085 | 1688~2810 | 30~4000 | 100~5000 | 70~2777 |
| T-P | 1~17 | 2.7~3.2 | 2~30 | 0.1~30 | 0.1~30 | |
| T-N | 200~2000 | | 766~2000 | 50~5000 | 50~5000 | |
| NH ₄ ⁺ -N | 100~1800 | 1400~1450 | 53~2000 | 1~1500 | 30~3000 | 5~730 |
| Hg | 0.007 | | | 0.0002~0.05 | 0.0002~0.05 | |
| Cd | ~0.04 | 0.014~0.018 | | 0.0005~0.14 | 0.0005~0.14 | 0.005~0.01 |
| Cr | ~0.3 | 0.54~0.545 | | 0.03~1.6 | 0.03~1.6 | 0.005~0.14 |
| Pb | ~0.5 | | | 0.008~1.02 | 0.0008~1.02 | 0.005~0.22 |
| Zn | ~2.2 | 0.026 | 0~1 | 0.05~170 | | 0.005~0.95 |
| Ca | ~320 | | | 10~2500 | | 165~1150 |
| Mg | ~290 | 9.5 | 14~41 | 50~1150 | 20~1150 | 12~4801 |
| Na | ~2300 | | | 50~4000 | 50~4000 | 43~2500 |
| Fe | ~58 | | 2~32 | 0.4~2200 | 3~2100 | 0.09~380 |
| Mn | ~9.6 | | | 0.4~50 | 0.03~65 | 0.32~26.5 |
| CN | ND | | 1 | 0.04~90 | | |
| As | ND | | | 0.005~1.6 | | |
| K | ~1700 | | | 10~2500 | | 20~650 |

Fig. 3.3에서 유입원수에 대한 운전기간중의 변화를 나타내었다. 특히, 여름철에 강우에 의한 유입수의 BOD 농도가 현저히 감소되는 것을 알 수가 있었다. 그러나, 이에 반해 유입되는 총질소(T-N)의 농도는 시운전 기간동안 일정하게 나타나는 것을 알 수가 있다. 특히, 9월과 10월에는 유입되는 BOD 농도와 TN의 농도가 거의 1:1로 나타나 생물학적으로 매립장 침출수의 처리에 외부탄소원의 주입을 필요로 한다는 것을 알 수가 있다. 유입되는 COD_{Cr}와 BOD의 비가 전체평균 농도로 2.2 : 1 정도로 측정이 되어 일정량의 난분해성 및 고분자 물질이 포함되어 있음을

알 수가 있다. 이는 시간이 경과할수록 그 비가 증가 할 것으로 일반적인 매립장 침출수의 성상에서 알 수가 있다.

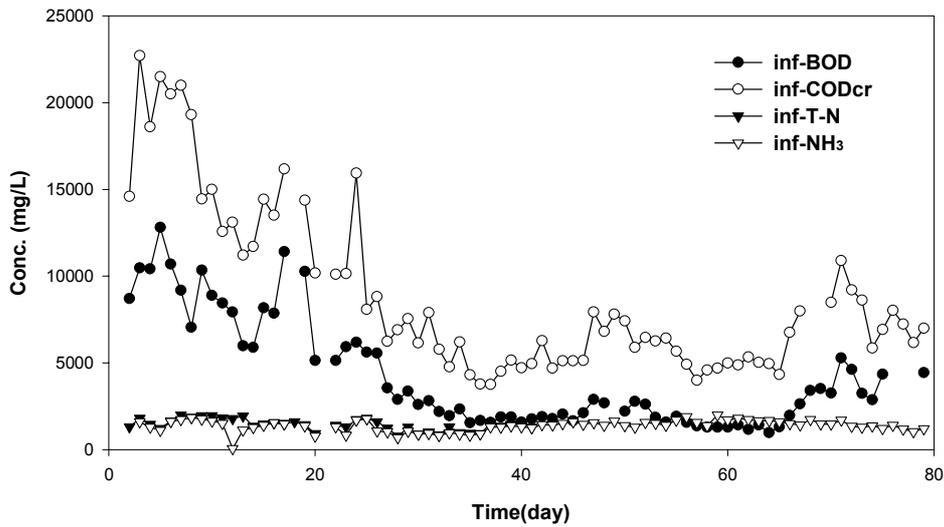


Fig. 3.3 Trend of leachate characteristics during the study

3.3 연구 내용

3.3.1 *Bacillus* sp.의 동정

미생물의 관찰은 그람염색으로 하여 관찰하였으며 그람염색법은 아래 Fig. 3.4와 같다.

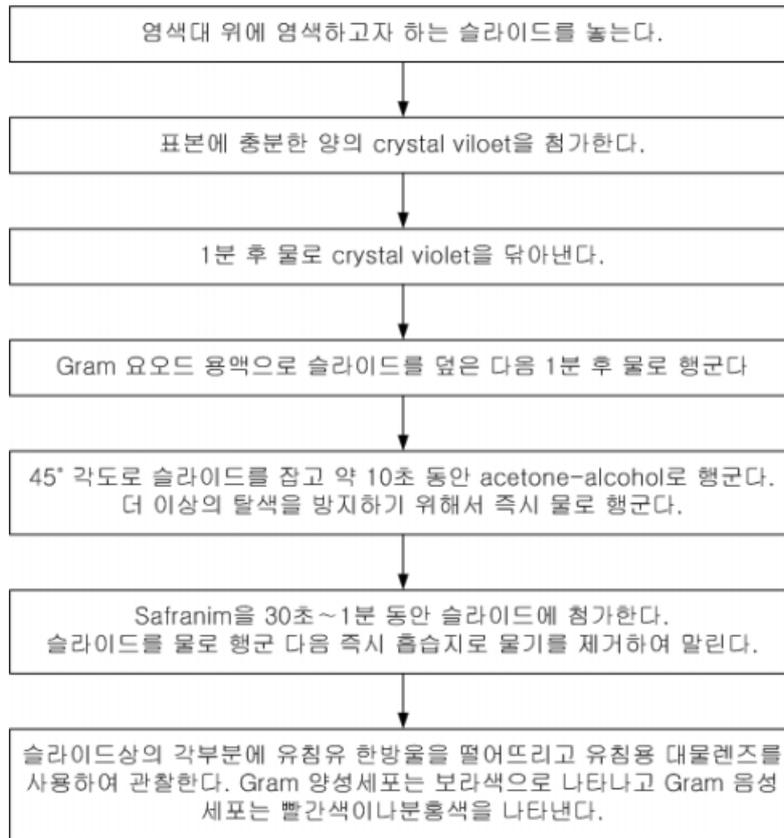


Fig. 3.4 Method for Gram-Strain of *Bacillus* sp.

3.3.2 암모니아 농도에 따른 *Bacillus* sp.의 증식과 형태학적 변화

본 연구에서는 Pilot plant에서 암모니아의 농도가 *Bacillus* sp.의 증식에 미치는 영양에 대해 밝히고 암모니아 농도에 따른 *Bacillus* sp.의 증식과 형태학적 변화에 대해 연구한다.

(1) 연구재료

실험에 사용된 배지는 액체배지로써 0.8% 영양분 수프와 0.8% 글루코스를 혼합하여 제조하였다. 암모니아성 질소($\text{NH}_4^+\text{-N}$)의 첨가를 위해 NH_4Cl 을 이용하였고 농도에 따른 변화를 관찰하기 위해 각각 0, 100, 3000, 5000, 10000ppm의 NH_4Cl 을 제조하여 첨가하였다. *Bacillus* sp.는 Pilot plant에서 분리한 포자 상태의 *Bacillus* sp.를 사용하였다.

(2) 연구방법

- 1) 제조한 배지에 NH_4Cl 을 농도별로 5ml씩 첨가한 후 멸균한다.(121℃, 15min)
- 2) 멸균된 증류수에 *Bacillus* sp. 균체를 접종한다.
- 3) *Bacillus* sp.의 우점화와 포자의 활성화를 위해 열처리한다.(80℃, 10min)
- 4) *Bacillus* sp.가 첨가된 증류수를 희석시킨다.($10^3 \sim 10^4$)
- 5) 멸균시킨 배지에 희석시킨 *Bacillus* sp.를 접종한다.
- 6) Shaking incubator에서 배양한다.(35℃, 200rpm.)
- 7) spectrophotometer를 이용해서 시간대별로 OD_{600} 을 측정하고 현미경(OLYMPUS BX40)으로 *Bacillus* sp.의 증식상태를 시간별로 관찰한다.

3.3.3 *Bacillus* sp. 반응조에서의 침출수 처리결과 변화

Bacillus sp. 처리시스템을 이용한 침출수의 유기물과 질소 제거능력을 평가하였다. 운전조건은 다음의 Table. 3.2에 요약하였다.

Table 3.2 Operating condition in plot plant

| Division | | 1 reactor | 2 reactor |
|------------------|----------------------------------|-----------|-----------|
| DO | 1 room | 1.1 | 1.1 |
| | 2 room | 0.6 | 0.7 |
| | 3 room | 0.4 | 0.4 |
| | 4 room | 0.2 | 0.2 |
| pH | 1 room | 7.7 | 7.6 |
| | 2 room | 7.6 | 7.6 |
| | 3 room | 7.5 | 7.6 |
| | 4 room | 7.6 | 7.6 |
| | precipitation tank | 7.6 | 7.6 |
| MLSS | 1 room | 7121.4 | 3164.3 |
| | 2 room | 6828.6 | 2828.6 |
| | 3 room | 6728.6 | 2750.7 |
| | 4 room | 6907.1 | 2968.6 |
| SS | mg /L | 6896.4 | 2918.0 |
| Return sludge | mg /L | 10727.3 | 5309.1 |
| Quantity of flow | m ³ /day | 0.8 | |
| Return of sludge | m ³ /day | 1.0 | |
| Inside return | m ³ /day | 2.6 | |
| Excess sludge | m ³ /day | 0.1 | |
| SRT | day | 74.7 | |
| F/M | kgBOD ₅ /kgMLSS · day | 0.034 | |

3.4 분석항목 및 방법

본 연구기간 동안 침출수 및 처리수의 온도, pH, DO는 매일 측정을 하였고, SS, COD_{Cr}, COD_{MN}, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N, Cl⁻, SO₄, Alkalinity, TKN, T-P, BOD는 주 2회 분석하였다.

분석방법은 Standard Methods 및 공정시험법에 따라 행하였다(49,50). 구체적인 분석방법은 다음의 Table. 3.3에 나타내었다.

Table 3.3 Summary of Analytical methods

| Items | Methods |
|--|--------------------------------------|
| pH | pH Meter |
| DO | YSI Meter YSI 85 Dissolved Oxygen |
| COD _{Cr} | Open Reflux Method |
| COD _{Mn} | Potassium Permanganate Method |
| SS | GF/C Suction Filtration |
| NH ₄ -N | Nessler Method |
| NO ₂ /NO ₃ /Cl/SO ₄ | Ion Chromatography |
| TKN | Kjeldahl Method |
| T-P | SnCl ₂ Method |
| Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn, Mg, Zn | ICP-AES Ultrasonic Neburization |

IV. 결과 및 고찰

4.1 *Bacillus* sp.의 동정

Bacillus sp.는 원핵생물 중에 비광합성 세균에 속하며 그람양성 세균으로서 그람염색 시 짙은 보라색이나 검은색으로 염색이 된다(48). *Bacillus* sp.의 형태학적 특징으로는 독립적 또는 사슬형태로 존재하고 형태상으로 간균 또는 원형으로 $0.5 \times 1.2 \sim 2.5 \times 10 \mu\text{m}$ 크기에 속하며(41), 일반 현미경을 통해서만 관찰되지 않는다. 아래 Fig. 4.1은 연속식 반응조의 1반응조의 미생물을 SEM으로 촬영한 것을 나타낸 것으로 원형형태와 사슬모양의 형태가 *Bacillus* sp.를 나타낸 것이다.

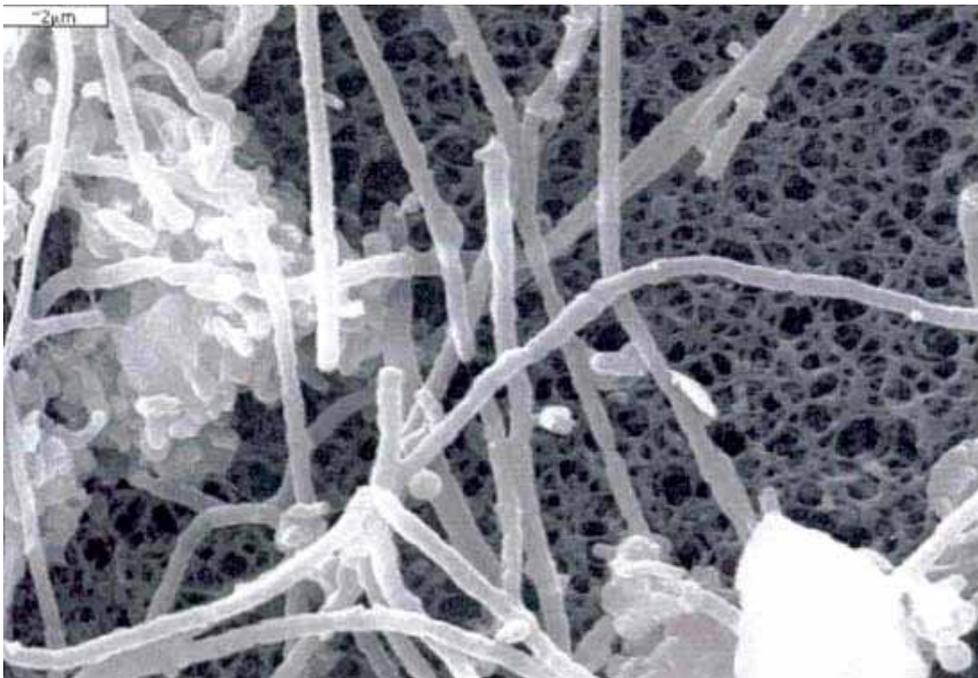


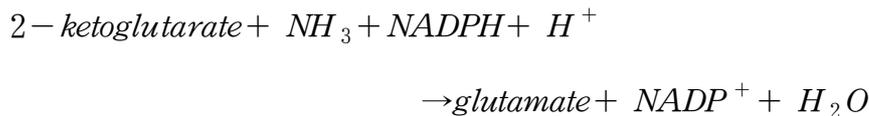
Fig. 4.1 SEM photograph of *Bacillus* sp. from reactor

4.2 암모니아 농도에 따른 *Bacillus* sp.의 증식과 형태학적 변화

4.2.1 NH_4^+ -N의 농도에 따른 *Bacillus* sp.의 증식과 형태학적 변화

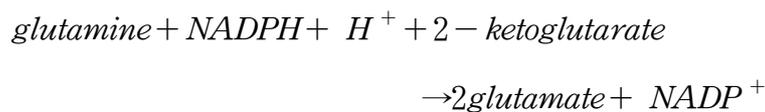
NH_4^+ -N(암모니아성 질소)이 *Bacillus* sp. 포자의 발아 속도와 증식에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해서 0, 1000, 3000, 5000, 10000ppm의 농도의 암모니아성 질소를 처리하여 실험을 수행하였다. NH_4^+ -N의 농도를 맞추기 위해 NH_4Cl 을 사용하였다. NH_4Cl 은 수용액에서 NH_4^+ 와 Cl^- 로 해리 되어진다. 수중의 암모니아는 비이온성 암모니아(NH_3)와 이온성 암모니아(NH_4^+)로 존재한다. *Bacillus* sp.는 수용액중의 암모니아(NH_4^+ -N)를 2가지 경로를 통해 아미노산(glutamate)로 합성해서 생체에 이용한다.

1) Glutamate dehydrogenase는 암모니아에 대한 친화도가 낮다



따라서 암모니아의 농도가 높을 때는 ATP의 소모 없이 이 효소에 의해 암모니아가 이용될 수 있다.

2) Glutamine synthetase와 Glutamate synthase



암모니아의 농도가 낮을 때는 암모니아에 대한 친화도가 높은 글루타민 합성의 작용을 통해서 암모니아가 글루타민으로 합성되고, 이어서 글루타민 합성의 작용을 통해 글루타민으로부터 NH_2 기가 2-ketoglutarate

로 이전되어 글루타민을 합성한다. 그 외에는 호기탈질에 의한 질소 제거, Anammox에 의한 질소 제거 그리고 일반적인 질산화 과정을 거친 이 후 탈질에 의한 질소 제거($\text{NH}_4^+-\text{N} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^--\text{N} \rightarrow \text{N}_2 \uparrow$)등이 보고되어지고 있다.

Bacillus sp.가 NH_4^+-N 를 체내에 이용하기는 하지만 이번 실험에서 확인되었듯이 높은 NH_4^+-N 농도(10000ppm)에서는 *Bacillus* sp.가 증식하지 못함으로써 개체수의 증가는 일어나지 않았다. 그러나, 일정 농도 이상의 NH_4^+-N 에서는 초기의 개체수 증가 속도는 억제되지만 일정 시간 경과 후에는 NH_4^+-N 의 농도에 *Bacillus* sp.가 적응하여 개체수의 증가상태를 보인다.

Bacillus sp.를 형태학적으로 관찰해 보면 NH_4^+-N 의 농도가 높을수록 증식속도가 감소되었다. 접종시에 필라멘트상의 *Bacillus* sp.를 접종하였는데, NH_4^+-N 의 농도가 증가할수록 필라멘트가 해체되면서 필라멘트의 길이가 짧아지는 경향을 보였다.

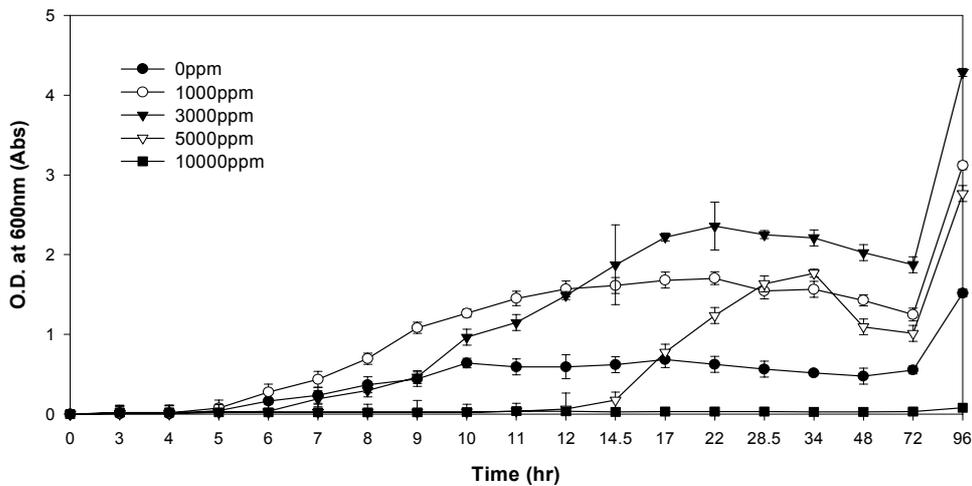
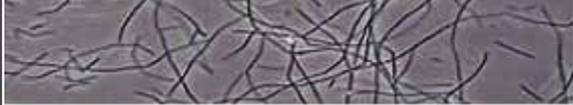


Fig.4.2 *Bacillus* sp. growth curved line by NH_4^+-N concentration

Table 4.1 Change of *Bacillus* sp. shape by ammonia concentration

| Ammonia concentration | <i>Bacillus</i> sp. microscope observation |
|-----------------------|--|
| 0ppm |  |
| 1000ppm |  |
| 3000ppm |  |
| 5000ppm |  |
| 10000ppm |  |

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 10000ppm일 경우에 0ppm보다 더 높은 개체수의 증식을 보였지만, 현미경 관찰시 형태적으로는 거의 유사하였다. 배양시간이 길어질수록 개체수의 증가로 인해 공간상의 부족, 영양분 결핍, 그리고, 노폐물의 증가 등의 이유로 포자화로 가는 시간이 짧았다.

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 3000ppm일 경우에 이번 실험에서는 *Bacillus* sp.의 증식에서 가장 활발한 것으로 관찰되었다. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 5000ppm일 경우에는 암모니아의 억제작용으로 개체수의 증식이 늦어졌다.

이번 실험을 종합해 보면 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 높을수록 *Bacillus* sp.의 증식속도는 감소되었다. 일정 농도 이상의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (10000ppm)에서는 *Bacillus* sp.의 포자가 발아되지 않고 증식이 억제되었다. 그리고, 적절한 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도(3000ppm)에서는 *Bacillus* sp.가 생체합성에 이용하여 개체수가 증가되는 것으로 관찰되어짐으로써 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도가 0ppm일 경우보다 더 많은 *Bacillus* sp.의 증식이 관찰되었다. 또한, 개체수의 증가로 인

한 한정된 공간과 영양분의 부족으로 *Bacillus* sp.의 포자화가 빨리 진행되었다.

1) 형태학적인 측면에서의 고찰

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 1000ppm일 때에는 배양한지 5시간에서는 0ppm보다 마디마디 사이가 짧았으나, 그 외의 배양 시간에서는 거의 유사한 형태였다. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 3000ppm일 때에는 포자가 발아하는데 더 긴 시간이 소모되었고 마디마디 사이가 더 짧았다. 따라서 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 가 높을수록 영양세포 상태에서 마디마디 사이가 더 짧았다.

2) 바실러스균의 증식속도 측면에서의 고찰

바실러스균은 암모니아를 체내에 이용하긴 하지만 높은 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도(10000ppm)에서는 영양 상태인 바실러스균의 개체수 증식이 일어나지 않았다. 그러나 바실러스균은 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도에 적응하는 시간이 높을수록 늦어지지만 그 농도에 적응하게 되면 수용액에 녹아 있는 암모니아를 이용함으로써 개체수의 증식이 일어났다. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도가 3000ppm일 때에는 이번 실험의 농도에서는 가장 많은 개체수의 증식을 보였다.

3) 종합적인 측면에서의 고찰

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 높을수록 포자의 발아속도는 늦어졌고 (Lag time은 길어짐), 마디마디 사이는 더 짧아졌다. 높은 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도(10000ppm)에서 포자의 발아는 억제되었다. 그리고, 적절한 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도(3000ppm)에서는 바실러스균이 생체 합성에 이용하기 위해 수용액에 존재하는 암모니아를 흡수하여 0ppm일때보다 더 많은 개체수의 증식을 보였다. 또한

개체수의 증식으로 인한 공간과 영양분의 부족 등에 의해 포자화가 빨리 진행되어졌다. 바실러스균은 암모니아의 농도와 같은 환경적인 스트레스에 의해 포자의 발아가 늦어지나 그 스트레스에 적응되는 시점에서는 포자가 발아되기 시작하였다.

4.2.2 NH_3^+-N 의 농도에 따른 *Bacillus* sp.의 증식과 형태학적 변화

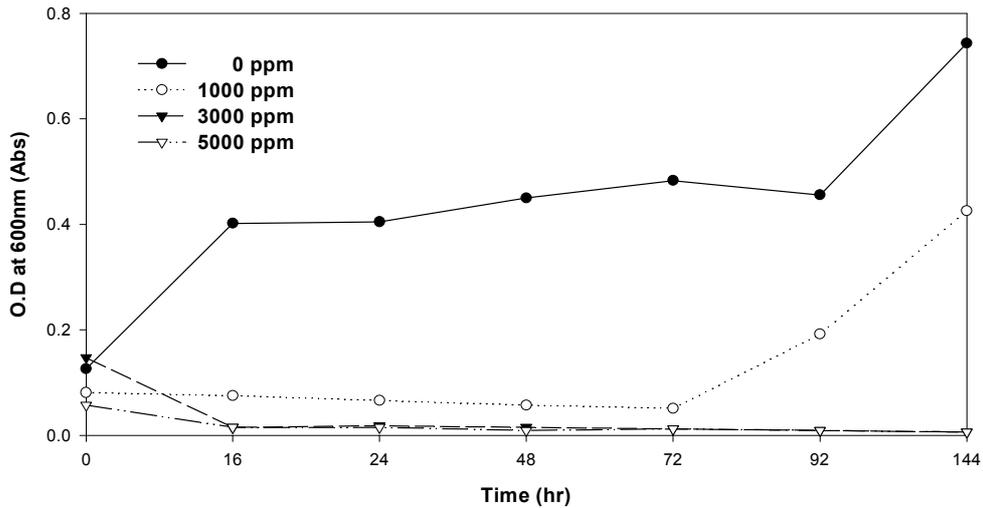


Fig. 4.3 *Bacillus* sp. growth curve by concentration and time

영양세포 상태에서 충분한 영양분 공급시 높은 농도의 NH_4^+-N 이 *Bacillus* sp.의 증식과 포자화에 어떤 영향을 끼치는지를 알아보기 위한 실험을 수행하였다.

대조구(0ppm)와 비교해 보면 암모니아 독성의 영향 때문인지 두께가 얇아져 보였다. 그러나, 낮은 농도에서는 초기에는 세포벽의 두께가 얇아져 보였으나 시간이 지날수록 그 농도에 적응해서 다시 대조구와 유사한 형태를 보였다. 하지만 높은 농도에서는 성장이 일어나지 않았다. 이 결과를 비추어 보면 높은 농도의 NH_4^+-N 는 *Bacillus* sp.의 형태적인 변화

를 일으켜 그 환경에 적응하기 어렵다는 결과를 유추할 수 있다.

대조구(0ppm)와 비교해 보면 암모니아 독성에 의해 개체수의 증식을 억제하게 된다. 높은 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도에서는 영양세포 상태에서 단간균, 그리고 포자로 가는 생활 주기를 억제함으로써 개체수의 증식을 억제한다. 더 많은 포자화가 진행되는지는 현미경상으로 구분하기 힘들었다. 그리고 어느 농도에서는 초기에 개체수의 억제를 보였으나 시간이 지나갈수록 그 환경에 적응되면서 다시 생활 주기를 가지면서 개체수의 증식을 보였다.

4.3 각 단계별 처리수질의 변화

4.3.1 유입수질의 변화

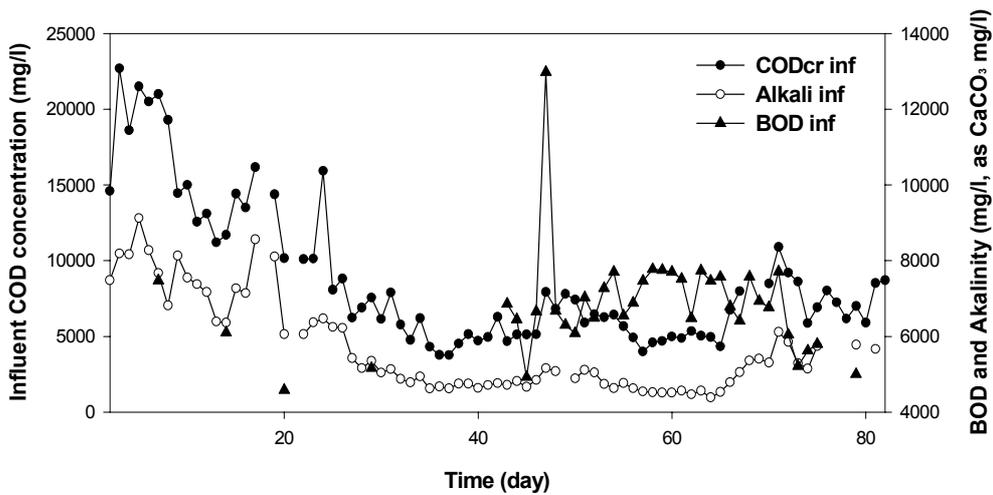


Fig. 4.4 Leachates contaminant concentration curve of experiments units

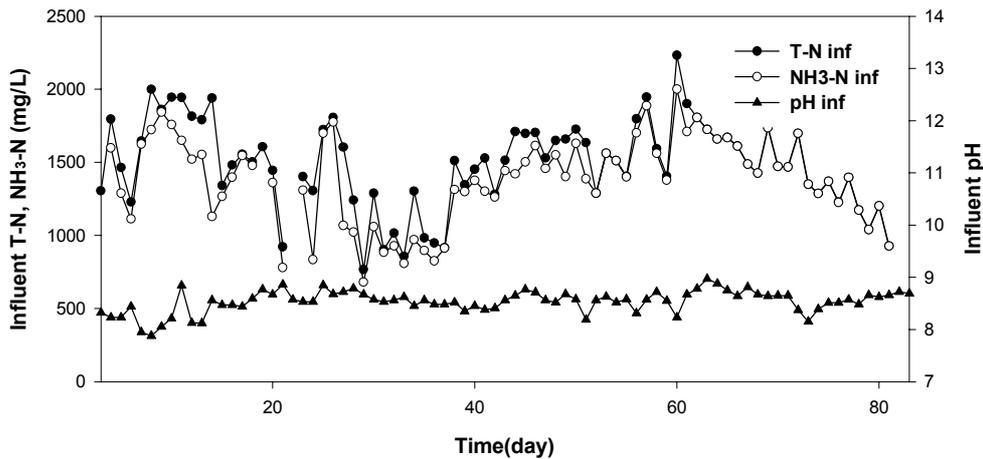


Fig. 4.5 Leachates Influent nitrogen concentration

Fig. 4.4와 Fig. 4.5는 실험기간 중 생물학적 처리공정에 유입된 침출수의 수질 추이로서 CODcr : 3,760~22,700mg/ℓ, BOD : 971~12,805mg/ℓ, Alkalinity : 4,000~8,000mg/ℓ, T-N : 766~2,000mg/ℓ, NH₄-H : 53~2,000mg/ℓ를 나타내었으며, 실험기간 중 동절기와 하절기에 유입수 중 Alkalinity 변화와 T-N 중의 NH₃-N 점유 비율에 현격한 차이가 발생하였는데, 이는 하절기 우기시 강우 유입량의 증가에 따른 침출수의 매립지 체류시간 단축으로 인한 영향으로 침출수 중 유기질소 성분비의 증가가 나타났으며, 실험기간 중 유입 침출수의 T-P는 10mg/ℓ 이하로 분석되었다.

4.3.2 처리수질의 변화

Fig. 4.6, 4.7, 4.8는 본 반응조 실험기간 중의 처리수질을 나타낸 것으로 총질소(T-N)의 제거효율은 50~80%, 암모니아성 질소는 90~99%를 나타냈으며, CODcr은 60~90%, BOD₅는 97~99%의 제거효율을 나타냈

으며, 1 반응조 4실에서 아질산염 축적 및 탈질시 유기물질의 처리효율은 낮아지는 현상을 나타내었다.

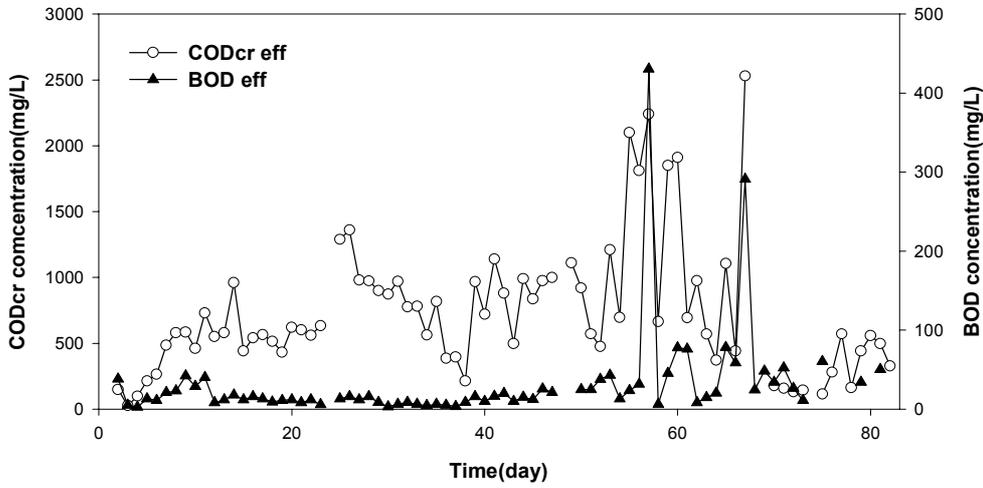


Fig. 4.6 The change of BOD, COD in treated water

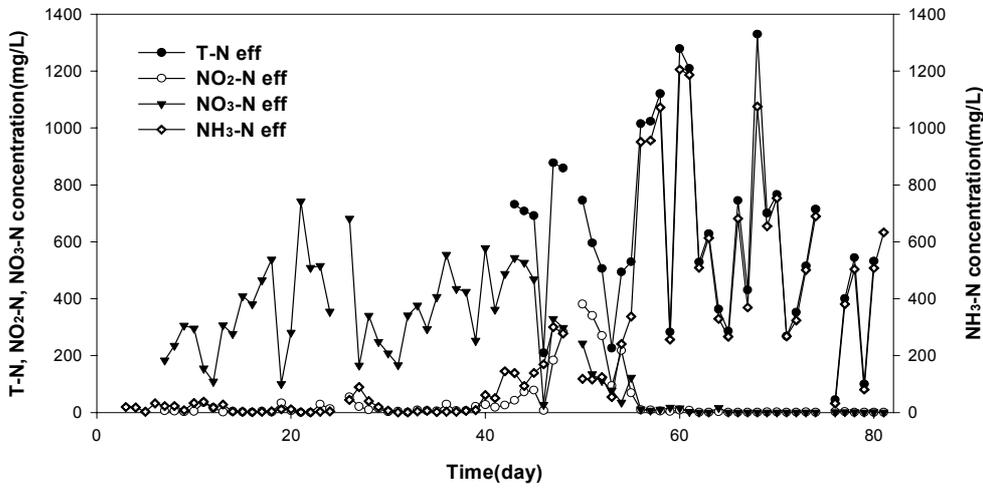


Fig. 4.7 The charge of nitrogen in treated water

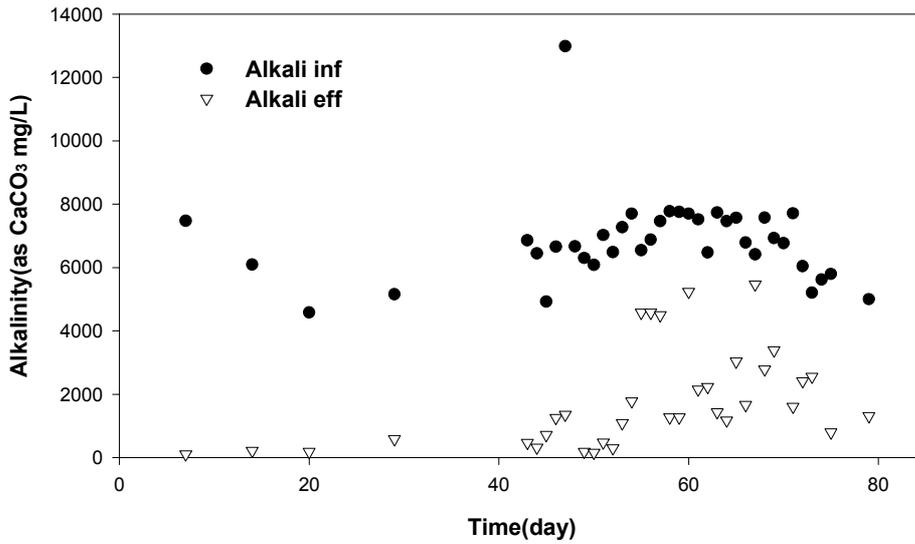


Fig. 4.8 The charge of alkalinity in treated water

4.4 생물학적 질산화, 탈질에 대한 영향인자 검토

4.4.1 아질산 축적

일반적으로 아질산성 질소는 정상적인 생물학적 질산화공정에서 많은 양이 축적되지 않으나, 고농도의 암모니아 함유 폐수에서 아질산 축적현상이 가끔 나타날 수 있다. 이러한 이유는 *Nitrosomonas*의 세포성장율 $0.04 \sim 0.08 \text{hr}^{-1}$, 사멸계수 0.02hr^{-1} 이나 *Nitrobacter*는 세포성장율 $0.02 \sim 0.04 \text{mg/mg}$, 비성장율 $0.02 \sim 0.06 \text{hr}^{-1}$, 사멸계수 0.002hr^{-1} 으로, *Nitrosomonas*의 성장속도가 높기 때문이며, 질산화균의 반포화 계수 (Half velocity coefficient, K_s)는 *Nitrosomonas*는 $0.2 \sim 1.7 \text{mg/l}$, *Nitrobacter*는 $0.18 \sim 0.25 \text{mg/l}$ 로 *Nitrobacter*가 작기 때문으로 알려져 있고, 질산화균의 적정생육조건은 pH, DO, 온도에 따라 변화하고 FA 농

도범위는 *Nitrosomonas*는 10~150mg/ℓ, *Nitrobacter*는 0.1~1.0mg/ℓ 이상에서 질산화 미생물에 저해 작용을 하는 것으로 보고되고 있다.

4.4.2 생물학적 질화탈질에 의한 영향인자

침출수의 질소제거시 반응조에서 1g의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 가 질산화되는데 5.8~6.8g의 알칼리도가 소비됨을 알 수 있었다. 이는 미생물 생성에 소비된 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 양을 고려하더라도 일반적인 이론치인 7.1g보다 적게 소비되는 것이다.

질산화에 영향을 미치는 인자인 pH에 따른 질산화율을 보면 pH가 6~8.8까지는 질산화가 원활하게 수행되다가 8.8이상이 되면 질산화율이 감소되며 pH가 9.0을 초과하게 되면 질산화율은 급격하게 감소해 장기 간 운전시 질산화가 수행되지 않음을 확인할 수 있었다.

4.5 처리율 저하에 따른 대책

pH 변화에 따른 충격부하를 줄이기 위하여 아래 Fig. 4.9와 같이 유량 조정조에 pH 조정조를 설치하여 처리효율의 변화를 살펴보았다. 유입수의 pH를 7.0~8.0 사이로 조절을 하였다. 전처리장치 처리후의 유출수의 변화는 BOD가 300mg/ℓ, COD가 560mg/ℓ, SS가 100mg/ℓ, T-N이 93mg/ℓ 이고 T-P가 1mg/ℓ 이하로 나타났다. Table 4.2와 같이 전처리 장치 설치 후에 안정적인 처리 수질을 얻을 수 있었다.

Table 4.2 After do processing plant establishment quality of water change

| | Influent | Effluent | Efficiency |
|-----|----------|----------|------------|
| BOD | 6888 | 300 | 95.6% |
| COD | 13230 | 560 | 95.8% |
| SS | 2578 | 110 | 95.7% |
| T-N | 1383 | 93 | 93.0% |
| T-P | 16 | 1 | 93.8% |

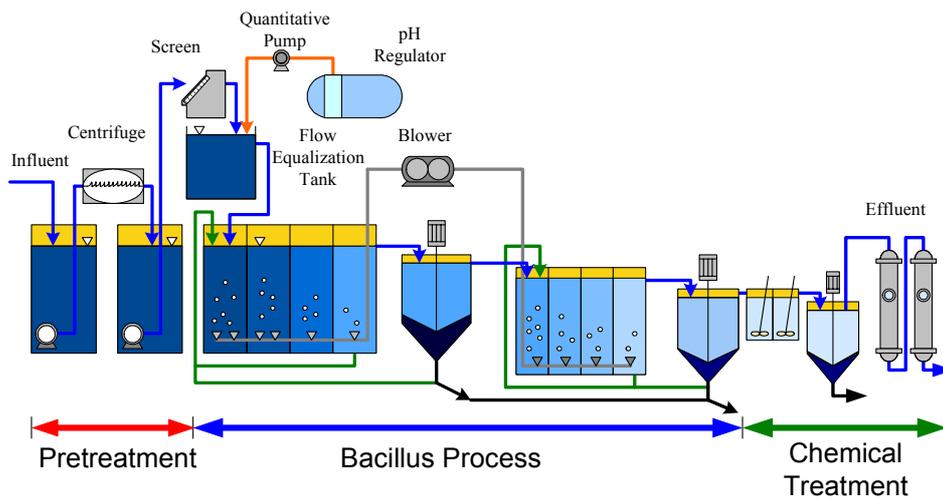


Fig. 4.9 Flow scheme of the Change-process for treating Landfill Leachate

V. 결론

본 연구에서는 *Bacillus* sp.을 이용한 침출수 처리장치의 Pilot Plant를 1년간 S 쓰레기 매립장 침출수를 대상으로 현장에서 가동시킨 결과를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 침출수에서 COD와 BOD농도의 급격한 변화에서도 *Bacillus* sp.균을 이용한 처리장치가 안정적인 처리수질을 보였으며, CODcr는 94~95%, BOD는 95~96%, T-N는 85~93%의 제거효율을 나타내었다.
2. 충분한 반응시간과 유기물이 주어지면 반응기내에서 질산화와 탈질이 동시수행이 가능하였고 탈질시 생성되는 알칼리도와 유입수중의 알칼리도 만으로 질산화가 가능하였다.
3. 암모니아 부하가 증가함에 따라 폭기조에서 pH와 알칼리도가 상승하여 질산화를 저해하였으며, 질산화 가능 범위는 pH 6.3~8.7로 나타났다.
4. *Bacillus* sp.는 암모니아의 농도가 3000ppm이상에서 저해작용으로 인한 성장억제 현상이 나타났으며, 암모니아 농도가 급격히 변화하는 경우에는 전 처리장치가 필요함을 알 수 있었다.

VI. 참고문헌

1. 환경부, 환경통계연감, 479~485, 2000
2. 황규대, 도시폐기물 매립지의 침출수 관리 문헌고찰, 한국폐기물학회, 제10권 3호, 443~462, 1993
3. 황규대, 매립지 침출수의 생물화학적 및 물리화학적 처리에 관한 연구 - 고령화된 매립지 침출수 처리방안 I. 한국폐기물학회, 제13권 6호, 588~596, 1997
4. 임정훈, 혐기-호기 시스템을 이용한 침출수의 유기물 및 질소제거, 부산대학교 환경공학과 석사학위논문, 4~8, 1999
5. T.H christensen, R. Cossu and R. Stegmann, "Sanitary landfilling Process", Technology and environmental Company Inc. 1987
6. 원종철, Fenton 산화공정을 이용한 매립지 침출수처리, 한국폐기물학회지, 제16권 3호, 314~321, 1999
7. Ho, S., W. C Boyle, and R. K. Ham, "Chemical Treatment of leachates from Sanitary Landfills", J. WCPF, 46, 7, 1776~1791, 1974
8. Mott, H. V., et al. "Metal Precipitation in Two Landfill Leachates", J. EED, Proc. of ASCE, 113, 3, 476~485, 1987
9. Bjorkman, V. B., and D. S. Mavinic, "Physiochemical Treatment of a High-Strength Leachate." Proc. of the 32nd Ind. Waste Conf., Purdue Univ., 189~195, 1977
10. Cook, E. N., and e. G. Foree, "Anaerobic Biostabilization of Sanitary Landfill Leachate", J. WPCF, 46, 2, 380~392, 1974
11. Temoin, E. P., and D. S. Mavinic, "Nutrient Requirement for

- Aerobic Biostabilization of Landfill Leachate", Proc. of the 36th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., 860~866, 1981
12. Seok-Tae Kang, Evaluation of Leachate Recirculation Rates on Landfill Stabilization, Department of Civil Engineering Korea Advanced Institute of Science and Technology, 18~22, 1996
 13. 배재호, 질소규제를 대비한 침출수 처리방향, 첨단환경기술 11월호, 2~12, 1999
 14. 하동윤, 조순행, 김영권, 침출수에 함유된 유기물질의 분자량 분포에 따른 생분해 특성 조사, 대한환경공학회 21(5), 977~989, 1999
 15. 배재호, 김은웅, 매립지 침출수의 암모니아성 질소 및 유기물 제거Ⅳ. 질산화/탈질 및 후처리에 의한 유기물 제거, 대한환경공학회 21(2), 315~324, 1999
 16. 배재호, 김상근, 장현식, 이동욱, 매립지 침출수의 암모니아성 질소 및 유기물 제거-Ⅲ. COD/N비가 탈질에 미치는 영향 및 질소 제거효율, 대한환경공학회 21(1), 159~169, 1999
 17. Mi-Hyun Park, Mathematical Modelling for Ammonia in Landfill Leachate, Department Civil Engineering Korea Advanced Institute of Science and Technology, 13~16, 1998
 18. 서명교, 외 7명 공저, 상·하 폐수처리, 동화출판사, 580~608, 1999
 19. 최해경, 무산소-호기-무산소-탈기 공정을 이용한 고도 하수처리에 관한 연구, 부경대학교 환경공학과 박사학위논문, 7~40, 2000
 20. C. R. Dean and O. P. Ward, Nature of *Escherichia coil* Lysis by Culture Supernatants of *Bacillus* Species, Applied and Environmental Microbiology Vol. 57, No 7, 1893~1898, 1991
 21. 염혜경, Bacillus sp.을 이용한 하수처리에 있어서 질소제거의 특성, 부경대학교 환경공학과 석사학위논문, 8~11, 2001

22. 나승진, 고농도 질소를 함유한 중금속폐수의 생물학적 처리, 한국해양대학교 토목환경공학과 석사학위논문, 14~31, 2000
23. Kenji Sakai, Yoshitomo Ikejata, Yoshihiro Ikenaga, Mamoru Wakayama and Mitsuaki Moriguchi, Nitrite Oxidation by Heterotrophic Bacteria under Various Nutritional and Aerobic Conditions, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 82, No. 6, 613~617, 1996
24. Anthonisen, A. C. et al. 1976. "Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 48:835.
25. Antoniou, P. et al. 1990. "Effect of Temperature and pH on the Effective Maximum Specific Growth Rate of Nitrifying Bacteria," *Wat. Res.*, 24:97.
26. Barth, E. F., R. C. Brenner and R. F. Lewis. 1968. "Chemical Biological Control of Nitrogen and Phosphorus in Wastewater Effluent," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 40:2040.
27. Batchelor, B. 1982. "Kinetic Analysis of Alternative Configurations for Single-Sludge Nitrification/Denitrification," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 54:1493.
28. Boon, B. and H. Laudelout H. 1962. "Kinetics of Nitrate Oxidation by *Nitrobacter winogradskyi*," *Biochem. J.*, 85:440.
29. Burdick, C. R., D. R. Reffling and H. D. Stensel. 1982. "Advanced Biological Treatment to Achieve Nutrient Removal," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 54:1078
30. Chudoba, J., J. S. Cech and P. Chudoba. 1985. "The Effect of Aeration Tank Configuration of Nitrification Kinetics," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 57:1078.

31. Comeau, Y., K. H. Hall, R. E. W. Hancock and W. K. Oldham. 1986. " Biochemical Model for Enhanced Biological Phosphate Removal," *Wat. Res.*, 20(12).
32. Dawson, R. N. and K. L. Murphy. 1972. "The Temperature Dependency of Biological Denitrification," *Wat. Res.*, 6:71.
33. Downing, A. L. and L. J. Scagg. 1958. "The Effect of Synthetic Detergents on the Rate of Aeration in Diffused Air Activated Sludge Plants," *Water Waste Treatment J.*, 7:102.
34. EPA. 1975. "Process Design Manual for Nitrogen Control. U. S. Environmental Protection Agency," Washington D. C.
35. IAWPRC Task Group on Mathematical Modeling for Design and Operation of Biological Wastewater Treatment. 1986. "Final Report: Activated Sludge Model," IAWPRC Scientific and Technical Reports No. 1.
36. Knowles, G., A. L. Downing and M. J. Barrett. 1965. "Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture with the Aid of a Computer," *J. Gen Microbiol.*, 38:263.
37. McCarty, P. L., L. Beck and P. St. Amant. 1969. "Biological Denitrification of wastewaters by Addition of Organic Materials," Proceedings of the 24th Purdue Ind. Waste Conf., Purdue University, Lafayette, Ind.
38. Metcalf and Eddy. 1991. "Wastewater Engineering; Treatment, Disposal, Reuse," McGraw-Hill, Inc.
39. Nagel, C. A. and J. G. Haworth. 1969, "Operation Factors Affecting Nitrification in the Activated Sludge Process," paper

- presented at the *42nd Annual Conference of the Wat. Pollut. Control Fed.*, Dallas, TX.
40. Nelson, L. M. and R. Knowles. 1978. " Effect of Oxygen and Nitrate on Nitrogen Fixation and Denitrification by *Azospirillum brasilense* Grown in Continuous Culture," *Can. J. Microbiol.*, 24:1395.
 41. Rivka Rudner, Oksana Martsinkevich, Wendy Leung and Erich D. Jarvi., classification and genetic characterization of pattern-forming Bacilli. *Molecular Microbiology* 27(4), 689~708, 1998
 42. 민경희, 김치경, 조민기, 대학미생물학, 탐구당, 1987
 43. Peter, H. A., A Review of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Microorganism, *Wat. Res.*, 4, 393, 1970
 44. Adam Driks, Bacillus spore coat, *Microbiology and Molecular Biology Review*, Vol 63, No 1., 1~20
 45. Nommik, H. 1956. "Investigations on Denitrification in Soil," *Acta Agric. Scand.*, 6:195.
 46. 오계현, 소재성, 송홍규, 미생물학실험, 신광문화사, 52~59, 2000
 47. Koki Murakami, Boon-sing Lee, Yukio Doi, Mitsuru Aoki and Ryoso Iriye, Dominant growth of Bacillus sp. in the serobic digestion tanks of night soil, First IAWQ Specialized Conference on Sequencing Batch Reactor Technology, 1996
 48. Sneath, P.H.A, Endospore-forming gram-positive rods and cocci, *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, Vol 2, 1104~1139, 1989
 49. APHA, AWWA, WEF, Standard Methods 18th edition, 1992
 50. 공정시험방법, 동화기술, 1993

51. Painter, H. A. 1970. "A Review of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Microorganisms," *Wat. Res.*, 4:393.
52. Painter, H. A. and J. E. Loveless. 1983. "Effect of Temperature and pH Value on the Growth-rate Constants of Nitrifying Bacteria in the Activated-Sludge Process," *Wat. Res.*, 7:237.
53. Schoberl, P. and Engel H. 1964. "Dar verhalten der nitrification bakterien geguber gelostem," *Archiv Fin Mikrobiologie.*, p. 393.
54. Skerman, V. B. D. and I. C. MacRae. 1957. "The Influence of Oxygen Availability on the Degree of Nitrate Reduction by *Pseudomonas denitrifications*," *Can. J. of Microbiol.*, 3:505.
55. Stensel, H. D. 1981. "Biological Nitrogen Removal System Design," *Water Amer. Inst. of Chem. Engrs.*, 237.
56. Stensel, H. D., R. C. Loehr and A. W. Lawrence. 1973. "Biological Kinetics of Nitrification Toxicity Test," *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 48:2343.
57. Wiljer, J. and C. C. Delwiche. 1954. "Investigations on the Denitrifying Process in Soil," *Plant Soil*, 5:155.
58. R.J.Seviour and L.L.Blackall, 1999. "The Microbiology of Activated sludge", 203~256.
59. Lisa Keating, Catherine Kelly, William Fogarty, Mechanism of action and the substrate-dependent pH maximum shift of the α -amylase of *Bacillus coagulans*, *Carbohydrate Research* 309, 311~318, 1998
60. Mike S. M. Jetten, Svein J. Horn and Mark C. M. van Loosdrecht, Towards a more Sustainable Municipal Wastewater Treatment System, *Wat. Sci. Tech.* Vol. 35, No. 9, 171~180, 1997

61. Edited by R. J. Seviour and L. L. Blackall, The Microbiology of Activated Sludge, 211~213, 1999
62. U Zissi, G Lyberatos and S Pavlou, Biodegradation of p-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis* under aerobic conditions, Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 19, 49~55, 1997

감사의 글

어느덧 2년이라는 시간이 지나고 2002년 새해와 함께 작은 결실을 보았습니다. 비록 여러 가지로 부족해서 아쉬움과 후회가 되지만 2년간의 노력의 결실이라고 생각합니다.

항상 부족한 저를 위하여 논문이 완성되기까지 사랑과 정성으로 가르쳐 주시고 지도해주신 김인수 교수님께 감사 드립니다. 바쁘신 와중에도 끝까지 논문을 고쳐주신 송영채 교수님, 인자하시게 여러 가지로 가르쳐 주시고 논문을 수정해주신 박상운 교수님 그리고 다양한 견문과 학문의 깊이 더해주시신 고성철 교수님께 감사 드립니다. 현장에 관련된 다양한 지식을 가르쳐 주신 김억조 교수님께 감사 드립니다. 다시 한번 머리 숙여 모든 교수님들께 감사 드립니다.

실험실 선배님이신 한국해양수산연수원 김동근 교수님, 피혁조합의 김흥기 상무님, 삼성 에버랜드 최영진 소장님, 친형처럼 우리를 보살피준 우리실험실 짱 성진형, 내 동기 주현이 그리고 후배이자 동생인 국진이에게 감사의 마음을 전합니다. 환경기기실험실 파이팅! 옆 미생물실험실의 성우형, 명현이 성규와 병혁이에게 감사드리고 환경공학실험실의 진석이와 상조에게도 고마운 마음을 전합니다.

논문자료와 관련정보를 보내준 정래형과 연구소 사람들에게도 감사드립니다.

함께 공부를 하다 졸업을 재동이 영기, 태성, 성용, 상현, 혁상, 지운이 열심히 일하는 규정이와 승진이 공부를 하는 동엽이 등 우리 동기들과 후배들에게도 감사의 마음을 전합니다.

대학원을 함께 졸업을 하는 정희, 경자, 희경이 향미에게도 수고했다는 말과 함께 감사의 마음을 전합니다.

나와 함께 우정을 나눈 오랜 친구인 향수와 동우 그리고 진석아 고맙다. 너희들에게 항상 좋은 일만 생기길 바란다.

언제나 저를 믿어주시고 보살펴주신 아버지와 어머니께 정말 감사 드립니다. 논문은 제가 쓴 것이지만 이 논문이 완성되기까지는 많은 이들의 도움이 있었습니다. 지면을 통해 다 인사드리지 못한 모든 분들께 감사드립니다.

2002년 새해에...

박 상 호