

## **A study on the comparison of coated nitrifying bacteria on nitrification efficiency and distribution of nitrifying bacteria**

Hyun-Jin Kwon, Joung Yee Yoon, <sup>1</sup>Jong-San Chae, Dong-Jin Kim\*

Department of Environmental Sciences & Biotechnology, Hallym University

<sup>1</sup>CIBio Tech Ltd

TEL: +82-33-248-2154, FAX: +82-33-256-3420

### **Abstract**

Nitrification characteristics and performance of wastewater treatment plants depend on not only temperature, pH, and dissolved oxygen of the wastewater but also species, distribution, and their metabolic states of nitrifying bacteria. Due to their low specific growth rate, nitrifying bacteria are easy to wash out of the reactor and need long time to start-up and recover from damaged nitrifiers community. In order to overcome this limitation, nitrifying bacteria were coated on a polyurethane-based media. Laboratory and pilot-scale reactor had been designed and operated to compare the effect of coated nitrifying bacteria on wastewater nitrification efficiency and performance. Furthermore, the species and quantitative distribution of nitrifying bacteria were also investigated in the suspension and on the media. The results showed that nitrifier-coated reactor had better nitrification efficiency and performance than the control experiments. It also demonstrated that the amounts of total nitrifying bacteria of a coated reactor was higher than other reactors and it increased with operation time and wastewater temperature.

### **1. 서론**

하·폐수 중의 질소는 유기질소(organic nitrogen)와 무기질소(inorganic nitrogen)의 상태로 주로 존재하며 생물학적 방법에 의한 질소제거는 질산화(nitrification)와 탈질(denitrification)로 구성되어 있다. 일반적으로 생물학적 질소제거 공정은 호기성 독립 영양 미생물에 의해서 이루어지는 질산화를 거쳐 종속영양 미생물에 의해서 무산소 반응조에서 탈질되어 기체 형태의 질소( $N_2$ )로 환원시킨 후 공기 중으로 방출하여 제

거한다. 호기성 독립영양 미생물에 의한 질산화는 다시 암모니아 산화균(ammonia oxidizers, AOB)과 아질산 산화균(nitrite oxidizers, NOB)의 두 종류에 의해서 진행된다.

질산화는 성정 및 반응 속도에 미치는 영향인자로는 온도, pH, 용존산소와 질산화 미생물에 악영향을 주는 독성물질 등이 있다. 대부분의 생화학반응에서와 마찬가지로 온도는 질산화 미생물의 비성장 속도 및 반포화속도 상수에 영향인자로 작용한다. 일반적으로 질산화 반응이 일어나는 온도는 4-45°C 이다. 그러나 수온이 15°C 이하에서는 질산화 반응의 제한인자가 된다고 알려져 있으며, 이러한 저온에서 질산화가 일어나기 위해서는 질산화 미생물의 농도를 높이는 방법이 유일하다. 그러나 실제로는 저온에서 암모니아의 산화속도가 떨어지기 때문에 질산화 미생물의 성장은 매우 느려지게 되고 궁극적으로는 질산화 미생물의 wash out이 일어나게 된다. 이는 당장 질산화 효율을 저하시키는 문제뿐 아니라 수온이 상승하더라도 반응기 내 질산화 미생물 농도를 회복하는데 상당한 기일이 소요됨을 의미하고 그 동안 적절한 질산화가 일어나지 못해 질소 제거 효율이 낮아지는 문제가 있다. 이러한 질산화 미생물의 낮은 성장속도에 의한 현상은 질산화가 일어나지 못하는 SRT(sludge retention time)가 낮게 설계된 폐수처리장에서의 것과 비슷하다. 이때에는 질산화 미생물의 성장속도가 어느 정도 된다고 하더라도 SRT가 이보다 짧게 되면 질산화 미생물은 wash out 되어 질산화를 기대할 수가 없다. 이러한 문제를 해결하고 저온에서도 질산화 미생물의 wash out 문제 및 질산화 효율 향상, 그리고 빠른 start-up을 위하여 질산화 미생물이 코팅된 담체를 사용하고자 한다.

본 연구에서는 질산화 미생물이 코팅된 담체를 하수처리장의 파일럿 플랜트 및 실험실 규모 생물 반응조를 이용하여 질산화 효율과 질산화 미생물의 분포에 질산화 미생물이 담체가 없는 반응기, 코팅되지 않은 담체, 그리고 코팅된 담체의 영향과 분포하는 질산화 미생물을 서로 비교하고자 한다. 질산화 미생물의 특성 분석을 위해 Fluorescence in situ hybridization(FISH)/Confocal laser scanning microscopy (CLSM)를 이용하여 담체에 부착된 것과 부유하는 시료를 채취하여 각각의 질산화 미생물 종류와 분포량을 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 1) 담체 및 pilot plant와 lab 규모 장치

실험에 사용된 담체는 공극 1~4 mm를 갖는 polyurethane을 기본 물질로 하고 표면에 질산화 미생물 코팅을 위해 perlite를 부착시켰다. 그 후 perlite가 부착된 담체를

질산화 미생물 배양액에 침적시킨 후 건조하여 질산화 미생물을 코팅하였다. 이 담체를 pilot 및 lab 규모 반응조에 주입하였으며, 질산화 성능과 미생물의 정량분포 해석을 위해 FISH 정량과 부유고형물(SS, VSS) 측정을 위해 lab scale의 3개 반응조 (무담체 반응조, 무코팅 담체 반응조, 미생물 코팅 담체 반응조)와 58톤 pilot plant에서 각각 샘플을 채취했다. 무담체 반응조를 제외한 세 반응조에서는 SS, VSS 측정을 위해 담체 시료 외 반응조 내의 혼합액도 일정량 취했다.

## 2) *In situ* hybridization

생물막 내 질산화 미생물의 동정과 분포에 대해서는 fluorescence *in situ* hybridization (FISH)을 이용하였으며 그 과정은 Amann<sup>8)</sup>에 의한 과정대로 수행하였다. CLSM은 Kr/Ar ion laser(Excitation wave length 494, 550, 650 nm)가 장착된 MRS-1024(Bio-Rad, U.K.) 사용하여 관찰하였다. 질산화 미생물의 FISH 분석을 위해 Nso1225, Ntspa662, Nit3, Eubmix 등의 oligonucleotide probe를 이용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

부유 및 부착미생물의 VSS 결과 값과 Eub 대비 질산화 미생물의 정량 분포비율(%)을 토대로 접촉 포기조 내에 존재하는 질산화 미생물의 절대량을 전체미생물량을 고려하여 정량적으로 계산하였다. 계산방법은 생물막에 부착하고 있는 것과 부유하고 있는 것으로 나누어서 각각의 VSS 농도와 각 포기조 혹은 담체의 부피를 곱하고 부유미생물, 담체 부착 미생물중 질산화 미생물의 비율을 곱해준 것을 합산하여 계산한 것이다. 여기서 질산화 미생물이라 함은 암모니아 산화균으로 Nso1225에 결합되는 것과 아질산 산화균으로 Nit3, Ntspa662에 결합되는 것을 모두 합친 것으로 하였다.

각 반응기에 대하여 시간변화에 따른 질산화 미생물의 양을 도식화하면 다음의 Figure 1과 같다. 각각의 반응기에서 운전 시간이 경과함에 따라 질산화 미생물의 양이 증가함을 알 수 있고 이는 수온의 증가에 따른 영향도 있다고 볼 수 있다.

다음의 Figure 2에서와 같이 생물막의 깊이에 따라 암모니아 산화균과 아질산 산화균의 분포를 비교한 결과 암모니아 산화균은 생물막 중심에서 최대 분포를 보이며 깊이에 따라 좌우대칭의 구조를 보이고 있다. 반면에 아질산 산화균인 *Nitrospira*는 깊이에 크게 관계없이 거의 일정한 분포를 보이고 있다.

요 약

생물반응기의 운전 특성과 성능은 온도나 pH, 용존산소 등의 물리화학적 조건 외에 미생물의 종류와 분포비율, 미생물의 대사상태에 따라서도 매우 다양한 특성을 보인다. 질산화 미생물 코팅 담체를 투입한 반응조에서는 담체가 없는 반응조에 비해 질산화 미생물의 양이 증가하였고, 또한 질산화 미생물이 코팅된 담체를 사용한 반응기는 코팅되지 않은 담체를 투입한 반응조에 비해 질산화 미생물 양의 상승효과가 있었다. 질산화 미생물의 양은 운전 기간과 수온의 상승에 따라 증가하는 것으로 나타났다.

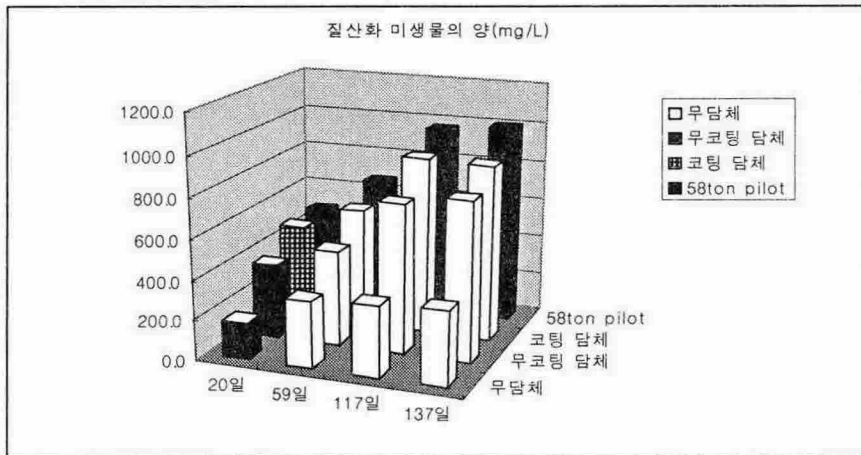


Figure 1. 운전시간에 따른 각 반응기별 질산화 미생물의 양 비교.

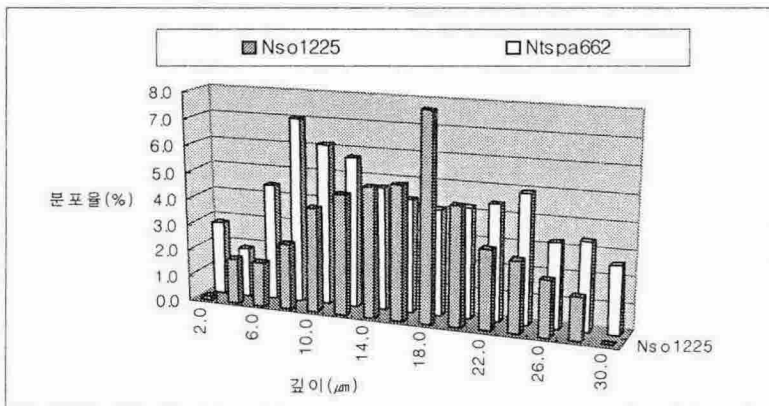


Figure 2. 코팅 담체에 부착된 생물막 깊이에 따른 암모니아 산화균(Nso1225)과 아질산 산화균인 Nitrospira(Ntspa662)의 분포 비율.

### 참고문헌

1. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ, Chisholm SW, Devereux R and Stahl DA (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 1919-1925.
2. Amann RI, Ludwig W, Schleiffer KH (1995) Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbial Rev.* **59**: 143-109.
3. Amann RI, Fuchs BM and Behrens S (2001) The identification of microorganisms by fluorescence *in situ* hybridization. *Curr. Opin. Microbiol.* **12**: 231-236.