

질화세균군이 고정화된 PVA(Polyvinyl Alcohol) bead 제조 및 암모니아성 질소 제거

서근학·조진구
부경대학교 화학공학과
(2000년 7월 21일 접수)

Preparation of Nitrifier Immobilized PVA(Polyvinyl Alcohol) Bead and Removal of Ammonia Nitrogen

Kuen-Hack Suh and Jin-Koo Cho

Dept. of Chemical Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-739, Korea
(Manuscript received 21 July, 2000)

Immobilized nitrifier bead in airlift bioreactor were used to remove high levels of ammonia nitrogen from synthetic wastewater. Polyvinylalcohol (PVA) bead for immobilization of nitrifier consortium were prepared by PVA-boric acid method by varying concentration of PVA and nitrifier consortium. By determining viscosity, sphericity and tailing, the characteristics of prepared beads were investigated and the continuous immobilization process was developed.

Synthetic wastewater containing 25g/m^3 of ammonia nitrogen could be treated within 0.5 hour and the highest removal rate of ammonia nitrogen was $934.2\text{g/m}^3\cdot\text{day}$.

Key word : nitrifier consortium, polyvinyl alcohol, ammonia nitrogen, wastewater, airlift bioreactor

1. 서론

수중의 총암모니아(total ammonia, TA)는 비이온성 암모니아(NH_3)와 이온성 암모니아(NH_4^+) 두 가지 형태로 존재한다. 중성의 pH에서 암모니아의 99%는 이온성 암모니아로 존재하며 pH가 높아질수록 비이온성 암모니아의 농도가 증가한다. 비이온성 암모니아는 동물의 세포벽을 통과하여 저농도에서도 어류에게 치명적인 피해를 주고,¹⁾ 또한 암모니아는 질산성 질소나 아질산성 질소로 산화되면서 수중의 용존산소를 고갈시키므로 암모니아성 질소를 신속히 제거하는 수처리 공정이 필요하다.

폐수 속의 암모니아를 제거하는 방법에는 파과점 염소 투입법(breakpoint chlorination), 선택성 이온 교환법(selective ion exchange), 탈기법(air stripping) 등의 물리화학적 방법과 질산화에 관여하는 미생물을 이용하는 생물학적 처리법이 있다.²⁾

생물학적 처리법 중 포괄 고정화법은 처리수와 미생물의 분리가 용이하고, 반응기 내부의 미생물 농도를 고농도로 유지할 수 있기 때문에 유입되는 폐수를 짧은 시간 안에 처리할 수 있다. 또한 온도나 pH 같은 환경조건이 급격히 변화하거나 독성물질이 유입되어도 고정화 미생물 자체의 완충작용에 의해 활성이 크게 변하지 않는

장점을 가진다.³⁾ 포괄 고정화법에 많이 사용되는 담체로는 천연고분자인 *k*-carrageenan, alginate 등과 합성고분자인 PEG(polyethylene glycol), PVA(polyvinyl alcohol) 등이 있으며, 이중 PVA는 가격이 저렴하고 장기간의 사용에 대한 내구성이 크며 고정화 시 미생물에 독성이 없는 장점을 가지고 있다.^{4,6)}

본 연구는 PVA에 고정화된 질화세균 bead의 연속적 생산을 위한 질화세균과 PVA의 적정농도 조건을 구하고, 25.0g/m^3 농도의 암모니아성 질소를 기준으로 폐수중의 암모니아성 질소의 효율적인 제거를 위하여 질화세균을 PVA에 포괄고정화 후 공기부상식 생물반응기를 이용하여 폐수내 암모니아성 질소 제거 실험을 행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 질화세균이 고정화된 bead 성상

본 연구에 사용한 질화세균은 부산 수영 하수처리장의 활성 슬러지의 활성 슬러지를 수거하여 Table 1에 나타낸 암모니아 배지를 공급해 질화세균으로 1개월 동안 순양시켜 질화세균 활성을 확인 후 고정화에 사용하였다.

PVA-boric acid법⁵⁾은 PVA 농도에 따라 고정화된 bead의 형태가 달라진다. 실험에 사용한 PVA는 Kurare

사(Osaka, Japan)의 PVA-HC(100% saponification; degree of polymerization, 2000)이다. PVA-boric acid법에 의해서는 일정한 크기를 갖는 구형의 bead를 연속적으로 생산하기 어렵다. 질화세균 고정화된 bead의 연속적 생산을 위하여 질화세균균의 농도를 1.13, 2.25%(dry wt./v)로 변화시키고 PVA의 농도를 7.5~17.5%(w/v)로 변화시켰을 경우 질화세균 고정화된 bead의 연속적 생산성에 대하여 고찰하였다. 또한 질화세균 고정화된 bead 내의 질화세균의 존재여부와 고정화된 균의 형태를 알아보기 위하여 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM) 촬영을 하고, 고정화 bead의 성상을 살펴보았다.

2.2. 질화세균 고정화

암모니아성 질소 제거 실험을 수행하기 위하여 PVA 15%-질화세균균 2.25%의 질화세균이 고정화된 bead를 이용하였다.

PVA-boric acid법에 의한 질화세균 고정화 방법은 Fig. 1에 나타내었다. 순양시킨 질화세균균은 3000rpm에서 10분 원심분리시켜 농축 질화세균균을 얻은 후 질화세균균을 4.5%(dry wt./v)로 희석하고, 30%(w/v) PVA 용액과 동량의 부피로 혼합하였다. 그리고 기포가 생기지 않도록 천천히 혼합하여 PVA 15%-질화세균균 2.25%인 혼합용액을 만들었다. 이 혼합용액을 peristaltic pump를 이용하여 일정한 속도로 8℃로 냉각한 포화 boric acid 용액에 떨어뜨려 구형의 질화세균 고정화된 구형의 bead를 생성하였다.

Table 1. Synthetic feedstock solution

Component	Concentration (g/m ³)	Function
NH ₄ Cl	95.48	N source
NaHCO ₃	681.73	Alkalinity control
Na ₂ HPO ₄	30.55	P source

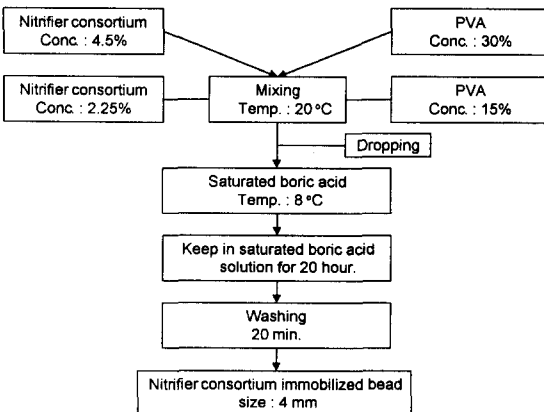
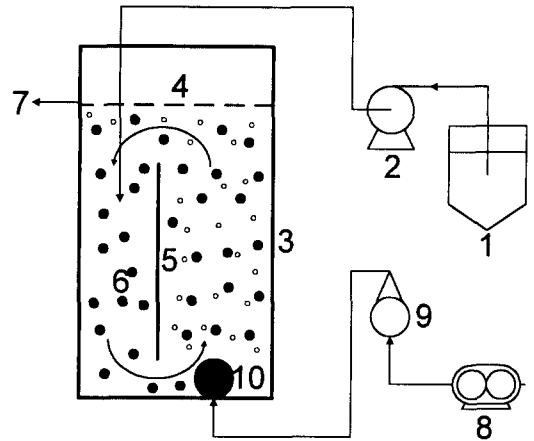


Fig. 1. Preparation of nitrifier consortium immobilized bead by PVA-boric acid method.

2.3. 생물반응기

실험에 사용한 공기부상식 생물반응기는 질화세균 고정화된 bead의 유동성을 높이기 위하여 반응기 내부에 baffle를 설치한 split-cylinder airlift bioreactor 형태로 제작하였다.^{7,8)} 공기부상식 생물반응기 및 실험장치의 모식도는 Fig. 2와 같다. 공기부상식 생물반응기는 내경 8 cm, 높이 24cm의 아크릴 관을 이용하여 제작하였으며 이때 반응기 체적은 500ml이었다.



- 1. Feed tank
- 2. Peristaltic pump
- 3. Airlift bioreactor
- 4. Screen
- 5. Baffle
- 6. Immobilized bead
- 7. Outlet port
- 8. Air pump
- 9. Rotameter
- 10. Air stone

Fig. 2. Schematic diagram of experimental apparatus.

2.4. 암모니아 제거 실험

공기부상식 생물반응기내 bead 상승부의 하부에 air stone을 이용한 공기 분산기를 설치하여 질화세균 고정화된 bead를 유동시키고, 질산화에 필요한 산소를 공급하기 위해 일정량의 공기를 공급하였다. 공기의 공급은 공기펌프를 이용하여 반응기의 하부로 공급되게 하였으며 공급되는 공기의 유량확인과 조절은 rotameter를 이용하였다. 합성 폐수 유입구는 bead가 침강하는 부분인 하강부의 액면 아래에 설치하여 유입된 합성 폐수가 질화세균 고정화된 bead와 충분히 접촉 후 반응기 밖으로 배출되도록 하였다. 유출구는 하강부 상부에 설치하였으며, 반응기 상부에는 bead의 유출을 막기 위하여 유출구 아래에 미세망을 설치하였다.

합성 폐수는 Table 1의 암모니아 배지를 사용하였으며, 이때 도시하수의 암모니아성 질소 농도를 기준으로 암모니아성 질소의 농도가 25.0g/m³되도록 조절하였다.^{9,10)} 합성 폐수의 성분은 암모니아성 질소원으로 NH₄Cl, 질산화에 소모되는 알칼리도를 보충하기 위해 NaHCO₃, 그리고 인성분으로 Na₂HPO₄이었으며, 이 기질들을 수돗물에 용해 후 정량펌프를 이용해 수력학적 체

류시간을 0.5시간으로 고정시켜 공급하였다.

공기부상식 생물반응기의 상층부로 공급되는 공기는 반응기 내부의 질화세균 고정화된 bead를 유동시키기 위하여 공기펌프를 이용하여 공급하였다. 질화세균 고정화된 bead는 공기부상식 생물반응기 체적에 대하여 5, 10, 15 및 20%로 충전하여 실험을 수행하였고, 공기부상식 생물반응기 내부로 유입되는 공기는 공기유입속도를 1.2 vvm(air volume/reactor volume/min.)으로 유지하면서 공기부상식 생물반응기에서 충전율에 따른 암모니아 제거의 관계를 고찰하였다.

유출수 및 유입수의 암모니아성 질소는 암모니아 선택 전극(Orion Research Inc.-9512BN)이 부착된 Ion meter (Orion Research Inc.-720A)를 이용하여 선택성 전극법¹¹⁾에 의해 분석하였다. 질산성 질소 및 아질산성 질소는 Ion chromatography (Dionex-DX 120)를 사용하여 분석하였다. 반응기 내의 용존산소 및 pH는 반응기 상단에 용존산소측정기(YSI 55)와 pH meter(Orion Research Inc.-290A)를 부착하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 질화세균 고정화 bead의 제조

질화세균 고정화된 bead의 제조에서는 PVA의 농도와 질화세균의 농도에 따라 bead의 생산성과 bead의 모양이 달라진다. 특히 PVA 농도에 많은 영향을 받는다. 질화세균군의 농도와 PVA의 농도에 따른 질화세균 고정화 시 특성을 살펴보면 Table 2와 같이 나타났다. PVA 농도가 7.5%인 경우 bead는 고정화되지 않고 풀림현상이 나타났으며, PVA 17.5 %인 경우 bead는 점도가 너무 높아 needle을 통해 사출되지 않았다. Tailing이 생길 경우는 bead가 서로 엉켜붙는 뭉침현상이 나타나 구형의 bead를 만들기 어려웠다. PVA 농도가 15%일 경우 tailing은 생기지 않고 구형의 bead가 잘 생성되었으므로, 본 연구는 PVA 15%에 더 많은 질화세균군을 고정화하기 위하여 질화세균군 2.25 %를 혼합 후 질화세균이 고정화된 bead를 생산하여 실험에 사용하였다.

Table 2. Characteristics of immobilized beads

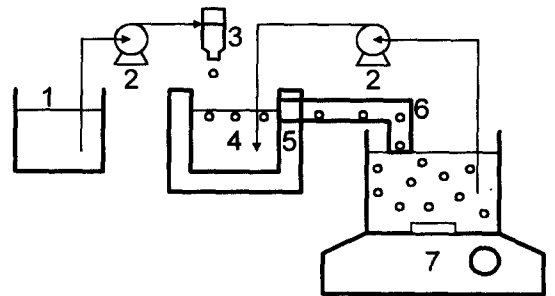
Nitrifier consortium conc.(%)	PVA Conc.(%)	Viscosity	Sphericity	Tailing
1.13	7.5	Low+	-	-
	10.0	Low	Moderate	Long
	12.5	Medium	Good	Short
	15.0	Medium	Good+	None
	17.5	High+	-	-
2.25	7.5	Low+	No good	-
	10.0	Low	Moderate	Long
	12.5	Medium	Good	Short
	15.0	Medium	Good+	None
	17.5	High+	-	-

+ : very
- : not determined

3.2. 질화세균이 고정화된 bead의 연속 제조장치

PVA-boric acid법에 의한 질화세균 고정화 방법에는 PVA가 빨리 경화되지 않아 bead가 서로 엉켜붙기 때문에 일정한 크기를 갖는 구형 bead의 연속생산이 어렵다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 본 연구에서는 PVA-질화세균군 혼합용액이 떨어지는 저온용기와 경화용기를 분리하는 Fig. 3의 장치를 고안하였다. 정량펌프에 의해서 PVA-질화세균군 혼합용액은 사출기에 공급되고 일정한 유속으로 직경 2mm의 needle을 통해 저온용기에 방출되어 떨어진다. 저온용기에 떨어진 혼합용액 방출은 서서히 경화되면서 연결관을 통해 경화용기로 이동하여 외벽부터 완전히 경화된다. 이때 경화용기의 boric acid 용액은 질화세균 고정화된 bead가 서로 붙지 않고, 구형을 형성시키기 위해서 교반기를 이용해 완속교반 시켰다. 경화용기의 boric acid 용액은 정량펌프를 이용해 다시 저온용기로 순환시켰다.

질화세균 고정화된 bead는 다시 포화된 boric acid 용액에 20시간 동안 완속교반 시켜 bead 내부까지 완전히 경화시킨 후, bead 주위에 묻어 있는 boric acid 용액을 수돗물에 1~2회 세척하였다. 이러한 방법으로 제조한 질화세균 고정화된 bead의 평균직경은 4mm였다. 질화세균이 고정화된 bead는 다시 20일 정도 Table 1의 암모니아 배지를 공급하여 질화세균이 고정화된 bead를 활성화시킨 후 암모니아 제거 실험에 사용하였다.



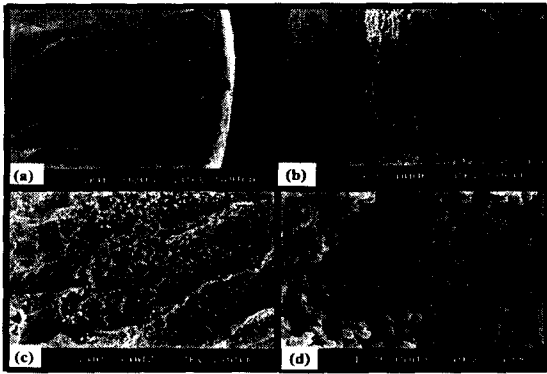
- 1. PVA and biomass mixture
- 2. Peristaltic pump
- 3. Needle
- 4. Boric acid solution
- 5. Ice bath
- 6. Tube
- 7. Magnetic stirrer

Fig. 3. Schematic diagram of immobilization apparatus.

3.3. 질화세균이 고정화된 bead의 성상

질화세균이 고정화된 bead 내의 질화세균의 존재여부와 고정화된 균의 형태를 알아보기 위하여 주사전자현미경 촬영을 하였으며, Fig. 4에 나타내었다. 사진(a)는 PVA만으로 고정화한 bead이고 사진(b)는 PVA와 질화세균군을 함께 고정화한 bead의 단면을 60배 확대한 것이다. PVA만으로 고정화한 사진(a)는 내부에 다양한 크기의 pore가 존재하는 것이 확인되었으며, 질화세균이 고정화된 bead인 사진(b)에서는 pore에 미생물이 촘촘히 존재하는 것이 확인되었다. 사진(c)는 사진(b)의 질화세

균이 고정화된 bead 내부의 일부를 200배 확대한 사진으로 bead 내부에는 100 μm 이상의 거대 pore와 20 μm 이하의 미세 pore가 존재하였으며, 질화세균이 고정화된 bead 내에 질화세균군 colony가 형성된 것을 확인할 수 있었다. 사진(d)는 질화세균이 고정화된 bead 내부를 1000배 확대한 사진으로 질화세균군은 계란형과 막대형으로 존재하며, 그 크기는 약 2~3 μm 정도였다. 이는 Lewis and Pramer¹²⁾와 Kim *et al*¹³⁾이 분리한 *Nitrosomonas* sp.의 크기가 1.5 -2.0 μm 인 것과 비교할 때 약간 큰 편이었다.



(a) Native PVA bead ($\times 60$)
 (b) PVA-nitrifier consortium bead ($\times 60$)
 (c) PVA-nitrifier consortium bead ($\times 200$)
 (d) PVA-nitrifier consortium bead ($\times 1000$)

Fig. 4. Microscope photographs of PVA bead and PVA-nitrifier consortium bead.

3.4. 암모니아 제거 특성

Fig. 5는 합성폐수의 암모니아성 질소 농도를 25g/m³으로 공급하고 수력학적 체류시간이 0.5시간 일 때 공기유입속도를 1.2vvm으로 일정하게 반응기 내부로 흘러 보내는 조건에서, 질화세균이 고정화된 bead를 충전율 5, 10, 15 및 20%로 변화시킴에 따른 암모니아 제거속도를 나타낸 그림이다.

충진율이 높아짐에 따라 암모니아 제거속도가 점점 증가하지만 충전율 15 및 20%에서는 거의 같은 암모니아 제거속도인 917.3 및 934.2g/m³·day를 나타내었다. 상기 암모니아 제거속도는 PEG에 고정화된 질화세균을 이용한 암모니아 제거속도인 406-499g/m³·day¹⁴⁾와 유동층 반응기에서 생물막 공정을 이용한 암모니아 제거속도인 450-660g/m³·day¹⁵⁾보다 매우 높아, 질화세균이 고정화된 PVA bead를 이용한 암모니아 제거는 매우 효과적인 방법으로 사료되었다.

또한 공기부상식 생물반응기에서 1.2vvm의 공기유입속도일 때 질화세균이 고정화된 bead의 충전율을 5에서 20%로 4배 증가시켜도 암모니아 제거속도는 783에서 934.2g/m³·day로 증가하여 약 19% 정도만 증가하였다. 암모니아 제거운전시 반응기내 용액의 D.O는 질화세균

고정화된 bead에 대한 임계산소농도인 3g/m³¹⁶⁾보다 높은 4.1-5.4g/m³로 유지되었다. 이러한 현상은 15 및 20% 충전된 bead를 유동하기 위한 공기량이 충분하지 않아 bead의 유동이 원활하지 않아 액본체와 bead간의 원활한 접촉기회가 감소하여 충전율 증가에 비하여 암모니아 제거속도가 상대적으로 적게 증가하는 것으로 사료되었다.¹⁷⁾ 그러므로 공기부상식 생물반응기에서 공기유입속도를 일정하게 고정하고 질화세균이 고정화된 bead의 충전율만을 높이는 것은 암모니아 제거에 그다지 효과적이지 않음을 알 수 있었다.

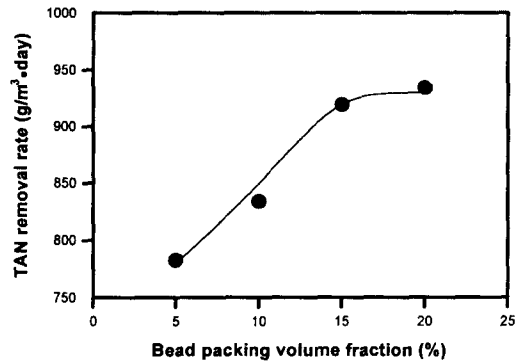


Fig. 5. Effect of bead packing volume fraction on TAN removal rate at the aeration rate of 1.2 vvm.

Fig. 6는 공기유입속도를 1.2vvm으로 일정하게 유지한 조건에서 질화세균이 고정화된 bead를 충전율 5, 10, 15 및 20%로 변화시킴에 따른 유출수의 암모니아성 질소(Total ammonia nitrogen, TAN), 질산성 질소, 아질산성 질소 농도의 변화와 무기질소(Total inorganic nitrogen, TIN)의 농도를 나타낸 그림이다. 암모니아성 질소는 용액내의 비이온성 암모니아성 질소(NH₃-N)와 이온성 암모니아성 질소(NH₄⁺-N)의 합으로 나타내었으며, 무기질소는 반응기내 암모니아성 질소(TAN), 질산성 질소(NO₃⁻-N), 아질산성 질소(NO₂⁻-N)의 합으로 나타내었다. 질화세균이 고정화된 bead의 충전율이 높아짐에 따라 암모니아성 질소와 아질산성 질소의 농도는 감소하고, 질산성 질소의 농도는 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 충전율 20%에서 암모니아, 질산 및 아질산성 질소의 농도는 충전율 15%일 때와 거의 비슷하였다. 이는 Fig. 5에서와 같이 충전율 20%에서 1.2vvm의 공기유입속도가 아질산성 질소의 산화를 위한 제한 요인으로 작용하였기 때문에 충전율 20%에서 암모니아성 질소 및 아질산성 질소가 더 이상 산화되지 않아 질산성 질소의 농도가 충전율 15%의 농도와 비슷하게 나타난 것으로 판단된다.

각 무기질소의 합은 유입수의 암모니아성 질소 농도인 25g/m³와 거의 유사한 농도를 나타내며, 공기부상식 반응기에서 질화세균이 고정화된 bead에 의한 암모니아 산화공정은 호기성 조건으로 질산화 반응만 일어나고 탈

질반응은 일어나지 않는 것으로 판단된다.

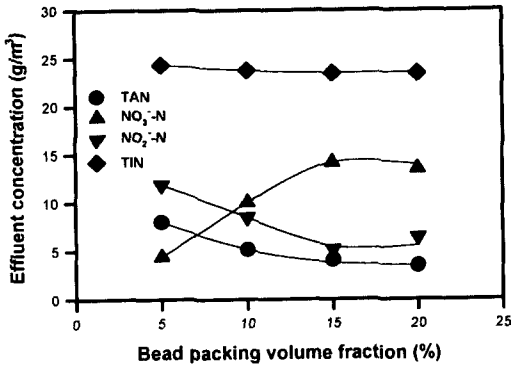


Fig. 6. Change of effluent TAN, NO₃⁻-N, NO₂⁻-N and TIN concentration.

4. 결 론

PVA 15 %-질화세균 2.25 %의 농도일 때 질화세균이 고정화된 bead의 연속적인 생산이 가장 용이하였으며, 질화세균이 고정화된 bead내 질화세균의 존재를 확인하였다. 상기조건에서 제조한 PVA bead를 생물반응기에 충전하여 1.2vvm의 일정한 공기를 공급하였을 경우 충전율 15, 20%에서 암모니아 제거속도는 917.3 - 934.2 g/m³·day 로서 질화세균 고정화된 PVA bead를 이용한 암모니아 제거는 매우 효과적인 방법으로 사료되었다.

감사의 글

이 논문은 2000학년도 1학기 부경대학교 연구년사업에 의하여 지원되었으며 이에 감사를 표합니다.

참고문헌

- Liao, P. B. and R. D. Mayo, 1974, Intensified fish culture combine water reconditioning with pollution abatement, *Aquaculture*, 3, 61~85.
- Bitton G., 1994, *Wastewater Microbiology*, John Wiley and Sons, pp.102~104.
- 김성구, 서재관, 이종석, 공인수, 서근학, 1997, 양어장 수내의 암모니아성 질소제거를 위한 질화세균의 고정화, *한국수산학회지*, 30(5), 816~822.
- Ariga O., T. Yamakawa, H. Fujimatsu and Y. Sano, 1989, Immobilization of β -galactosidase with polyvinyl alcohol, *J. of Ferm. and Bioeng.*, 68(4), 293~295.
- Hashimoto S. and K. Furukawa, 1987, Immobilization

- of activated sludge by PVA-boric acid method, *Biotech. and Bioeng.*, 30, 52~59.
- 서재관, 서근학, 김성구, 1999, PVA에 고정화된 nitrifier consortium을 이용한 암모니아성 질소의 제거, *한국생물공학회지*, 14(1), 51~57.
- Chisti, M. Y., 1989, *Airlift Bioreactors*, Elsevier Applied Science, London and New York, 345pp.
- 김창원, 1998, 공기부상형 유동상 생물막반응기에 의한 고도처리기술, *첨단환경기술*, 5, 2~8.
- 최명수, 윤여진, 방기웅, 이준호, 1998, 공동주택 오수 배출 특성에 관한 조사연구(I), *한국물환경학회지*, 14(2), 137~144.
- 김무훈, 조재현, 김용환, 이용우, 이원권, 1998, 생활 폐수 처리용 생물막 반응기에서 담체재질의 종류에 따른 미생물상의 조사, *한국물환경학회지*, 14(3), 339~345.
- APHA, AWWA WEF, 1998, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed., EPS Group, 4~106 & 4~108.
- Lewis, R. F. and D. Pramer, 1958, Isolation of *Nitrosomonas* in pure culture, *J. Bact.*, 76, 524~528.
- 김대경, 김현국, 이종석, 서근학, 김성구, 공인수, 1997, 암모니아 산화 세균 *Nitrosomonas* sp. PK1의 분리 및 특성, *생명과학회지*, 7(2), 107~111.
- Mishima, K., T. Nishimura and M. Fujita, 1998, Study on characteristics and effecting factors of nitrification in media-added activated sludge process, *J. of Jap. Soc. Wat. Environ.*, 21(4), 237~243.
- Tijhuis, L., J. L. Huisman, H. D. Hekkeiman, M. C. M. von Loosdrecht and J. J. Heijnen, 1995, Formation of nitrifying biofilms on small suspended particles in airlift reactor, *Biotechnol. Bioeng.*, 47, 585~595.
- Tanaka, K., M. Nakao, N. Mori, H. Emori, T. Sumino and Y. Nakamura, 1994, Application of immobilized nitrifiers gel to removal of high ammonium nitrogen. *Wat. Sci. Tech.*, 29(9), 241~250.
- Tanaka, K., M. Tada, T. Kimata, S. Harda, Y. Fujii, T. Mizuguchi, N. Mori, and H. Emori, 1991, Development of new nitrogen removal system using nitrifying bacteria immobilized in synthetic resin pellets, *Wat. Sci. Tech.*, 21, 681~690.