

인축적 미생물의 인방출과 세포내 저장물질 합성관계

신응배* · 김미경* · 홍준혁** · 공동수**

한양대학교 토목·환경공학과

*지역환경기술개발센터연합회

**국립환경연구원 수질총량관리센터

Relationship between Phosphorus Release and Intracellular Storage Polymer Synthesis by Phosphorus Accumulating Organisms

Shin Eung-Bai* · Kim Mee-Kyung* · Hong Jun-Hyeok** · Kong Dong-Soo**

Department of Civil & Environmental Engineering, Hanyang University

*Council on Regional Environmental Centers

**National Institute of Environmental Research : Watershed Management Research Center

(Received 21 April 2003, Accepted 22 October 2004)

Abstract : Biological phosphorus removal is characterized by complex interactions between different intracellular components of energy as PHA. Therefore, fundamental understanding of the behavior of the intracellular components and their influence on the removal of phosphorus is essential before control strategies to stabilize the proper process. The purpose of this study is to investigate relationship between release of phosphorus and synthesis of intracellular storage polymer.

Mass of stored intracellular storage polymer was 21.2 mg PHA/L, 28.8 mg PHA / g MLSS. And phosphorus release/intracellular storage polymer synthesis rate was 1.8545 mg stored polymer/mg Phosphate. In the aerobic phase, mass of PAOs synthesis is 49.37 mg PAOs/L. And PAOs fraction was 6.7-6.9%. Thus intracellular storage polymer synthesis by PAOs is calculated as 493mg PHA / g PAOs.

keywords : Enhanced biological phosphorus removal, PAO, Intracellular storage polymer, PHA

1. 서론

생물학적 인제거는 두 가지 원리에 의해서 이루어진다. 미생물의 성장 및 구성물질을 위한 인이 세포와 화학양론적 결합을 함으로서 제거되는 것과, 에너지 저장 및 전달체로서의 poly-P의 과다한 섭취에 의해서 제거되는 것이 있다. 두 번째 방식은 luxury uptake라고 하며 EBPR공정의 인제거의 핵심적 역할을 담당한다. EBPR공정은 슬러지를 혐기상과 호기상에 순환 접촉시키는 것으로 이루어져 있다. 이러한 혐기, 호기상의 조절에 의해 미생물은 많은 양의 poly-P를 축적하게 되고 이런 상태의 슬러지를 폐기함으로써 정상적인 인제거량보다 많은 양의 인을 제거할 수 있게 된다.

인축적 미생물은 혐기성 상태에서 사용할 수 있는 탄소성 기질이 충분할 경우, 세포내부에 PHA형태의 intracellular polymer를 합성하여 저장해 두며 이 과정에서 필요한 에너지는 poly-P의 분해를 통해 얻어지며 분해된 poly-P는 세포 외부로 방출된다. 호기성 상태에서 인축적 미생물은 혐기성 상태에서 저장된 PHA를 분해하여 성장에 필요한

탄소원 및 에너지를 얻으며 이전의 혐기성 상태에서 방출된 poly-P성분을 재합성한다(Grady et al., 1999). 이상의 과정에서 볼수 있는 것처럼, 인의 방출/섭취와 PHA의 합성/분해는 양론적으로 매우 밀접한 관계를 가지고 있으며, 이러한 관계의 규명은 EBPR공정에서의 인제거를 조절을 위해 필수적인 요소이다(전 등, 2000).

본 연구에서는 혐기상태의 Intracellular storage polymer의 합성 및 인방출 반응 특성 조사와 합성량 및 인방출량을 비교분석하였으며 본 연구에 이용된 Biomass내의 PAOs fraction을 계산하여 PAOs에 의한 Intracellular storage polymer의 합성량을 산정하였다.

다음 Fig. 1에 본 연구의 내용과 범위를 요약하였다.

2. 실험방법

2.1. EBPR 반응기 운전

본 실험은 Lab scale의 고도처리 반응기를 운전하여, 이후의 Batch test를 실시하기 위한 EBPR공정의 미생물을 배양하기 위해 이루어졌다. 반응조의 탄소성 기질 및 영양염류 제거효율을 측정하여 반응기가 안정화된 시점의 미생물을 이용하여 Batch test를 실시하였다.

* To whom correspondence should be addressed.
wonderpr@dreamwiz.com

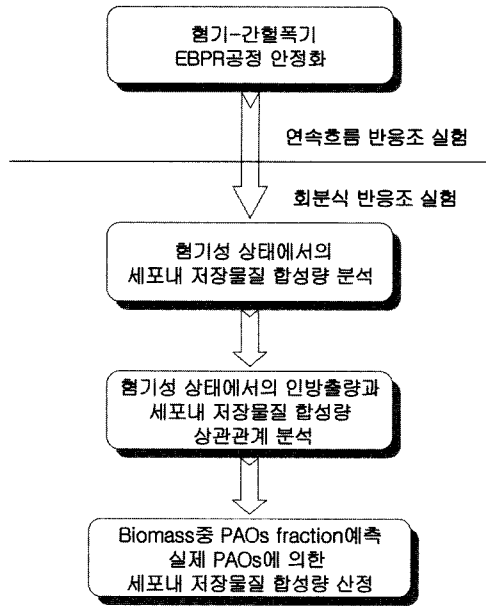


Fig. 1. Scheme of studies.

EBPR 반응이 가능한 미생물을 배양하기 위해 전단에 배양조가 배치된 협기-간헐폭기 공정을 운영하였다. 배양조에는 토양미생물의 배양을 위해 토양성분의 Pellet을 주입하였고, 본 실험에 이용된 Lab scale 반응기의 공정도는 Fig. 2에 나타내었으며 운전조건은 Table 1과 같다.

공정의 주반응조인 간헐폭기조는 폭기/비폭기가 30/30 min 간격으로 반복되며, DO의 조절은 aquarium diffused aerator를 이용하여 폭기시 DO_{Max}가 2.5mg/L에 도달하도록 조절하였다. 간헐폭기조의 폭기시간 조절을 위하여 Timer를 연결하였다.

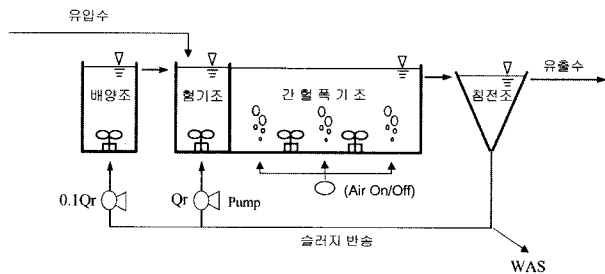


Fig. 2. Schematic diagram.

Table 1. Operation conditions

운전인자	
유량, L/d	36
SRT, days (Total/Aerobic)	20/8
HRT, hr (협기조/간헐폭기조)	1/4
폭기/비폭기, min	30/30
외부반송율, % (협기조/배양조)	100/10

HRT는 배양조 24hr(3.6L), 협기조 1hr(1.5L), 간헐폭기조 4hr(6L)이며, 공정내의 적절한 MLSS 유지와 SRT 조절을 위하여 폭기조에서 폭기가 끝나는 시점에서 매일 432ml를 폐기하여 SRT_(Total)를 20days 로 운전하였다.

반송율은 유입수대비 100% 협기조로 반송되었으며, 배양조로의 슬러지반송은 10%로 운전되었다.

수온은 Water Bath를 이용하여 20±2℃를 유지하였다.

침전조의 균등한 슬러지 반송과 슬러지 정체에 의한 부패를 막기 위하여 1rpm의 Motor에 Scraper를 연결하여 설치하였다. 또한 배양조에는 토양미생물의 배양과 증식 등 활성화를 위하여 부식토로 만들어진 Pellet과 경석을 함께 같은 비율로 배양조 총 용량의 10%를 충전하였다.

유입수는 합성폐수를 이용하여 매일 36L/d씩 공급하였다. 본 연구에 사용된 Lab scale 반응기 및 연결관은 독성 및 반응성이 없는 재질로 제작되었으며 미생물 및 bulk liquid는 자연유하가 되도록 설치하였다. 각 반응조의 혼합은 40rpm의 motor에 교반기를 부착하여 이루어졌으며, 유입수의 주입과 슬러지의 반송에는 Masterflex 정량펌프를 사용하였고, 배양조 슬러지 반송에는 FMI 피스톤 미량 펌프가 사용되었다.

2.1.1. 시료 분석

모든 분석은 Standard Methods(1995)와 수질오염공정시험법에 준하여 실시하였으며, 시료채취시 유입수는 임의 채취로, 유출수는 24시간 유출된 처리수를 모아서 분석하였다. DO, pH, 온도는 수시로 측정하였으며 COD_{Cr}, NH₄-N, NO₃-N, PO₄-P는 1주일에 5회 이상 분석하였고, TKN과 NO₂-N 그리고 MLSS, MLVSS는 1주일에 2회 이상 분석을 실시하였다.

2.2. 협기성 상태에서 인방출 및 세포내 저장 물질 합성실험

협기성 상태에서의 인방출 및 저장물질 합성 실험을 위하여 Fig. 3과 같은 2.5L용량의 회분식 반응기를 사용하였다. 실험에 사용한 슬러지는 동일한 MLSS농도로 희석되어 사용되었으며, 합성 유입수 500mL와 1:1비율로 혼합되어 주입하였다. 모든 실험에서 MLSS는 700mg/L를 유지시켜

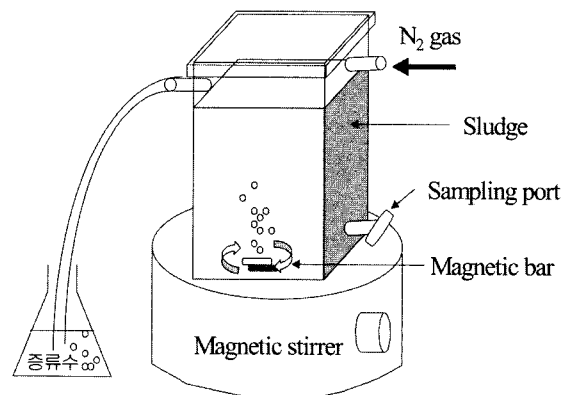


Fig. 3. Schematic diagram of batch reactor.

주었으며 합성 유입수의 초기 COD는 333mg/L, NH₃-N은 21 mg/L, PO₄³⁻-P는 7mg/L로 연속호흡식 반응조와 동일한 농도를 나타내도록 해 주었다.

ASM-II model의 가정을 바탕으로, 세가지 형태의 Bio-mass(세포내부의 저장물질이 완전히 소모된 상태의 미생물, 혐기성 상태에서 충분한 기질에 접촉한 상태에서 저장물질을 충분히 합성한 상태의 미생물, 그리고 혐기성 세포내 저장물질의 합성반응이 억제된 상태에서 미량의 세포합성량이 증가된 미생물)의 COD값을 비교함으로써 혐기성 상태에서 인축적 미생물에 의한 세포내 저장물질 합성량을 간접 분석하였다(Henze et al., 1995).

Sampling된 시료는 원심분리(3000rpm, 10분간)를 거쳐 세포벽 외부에 흡착상태로 존재하는 기질을 제거해 주었다. 분리된 고형물은 회석되어 TCOD를 측정하였고, 여액은 GF/C filter paper(Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Japan)로 여과후 SCOD, PO₄³⁻-P를 측정하였다.

① 초기상태 세포 측정과정

세포벽 외부에 흡착상태로 존재하는 기질을 제거해 주기 위해서 3000rpm에서 10분동안 원심분리를 시켜주었다. 또한 PHA등의 세포내 저장물질을 제거하기 위하여 3시간 가량 호기성 소화를 시켜 주었다.

② 저장물질 보유상태 세포 측정과정

PHA등의 세포내 저장물질을 충분히 합성하여 저장해둔 상태의 세포를 준비하기 위하여 2시간 가량 혐기성 상태에서 충분한 기질과 접촉시켜 주었다. 저장물질 합성이외의 기질소모 (i.e. Fermentation)를 억제해 주기 위해 탄소성 기질은 SCFAs형태인 Acetate만을 주입시켜 주었다. Sampling 은 15분 간격으로 이루어졌다.

③ 저장물질 저장과정에서 합성되는 세포량 측정과정

PHA등의 세포내 저장물질을 저장하는 과정에서 합성되는 세포량을 측정하기 위해 PHA합성은 억제한 상태에서 기질과 접촉시켰다. PHA합성은 세포내의 Poly-P를 분해하면서 얻어지는 에너지를 이용하는 반응이므로 인이 이미 충분히 방출되어서 더 이상 PHA합성에 필요한 에너지를 얻을수 없는 상태의 슬러지를 ①~②의 과정을 거치도록 한다. 이 과정을 통해 PHA합성은 억제된 상태에서 세포합성만을 유발시킴으로서 PHA저장과정에서 동시에 이루어지는 세포합성량을 측정하였다.

2.3. 실험에 사용된 미생물중 인축적 미생물의 함량 조사

본 연구에서 사용된 슬러지중의 인축적 미생물의 함량을 조사하기 위해 Henze의 인섭취량과 인축적 미생물 합성의 상관관계식을 이용하였다. 혐기성 상태에서의 인방출 이후, 호기성 상태에서의 인섭취 실험을 실시하여, 인섭취 미생물의 성장속도(mg/L · hr)와 전체 미생물의 성장속도(mg/L · hr)를 분석하여, 실험에 사용한 미생물중 인축적 미생물의

함량을 조사하였다.

혐기성 상태에서 미생물과 기질을 접촉시켜서 인의 방출을 유도한 뒤, 용존산소를 주입해 줌으로서 인의 섭취반응을 진행시킨다. 호기성 상태의 초기 MLSS농도 및 PO₄³⁻-P 농도를 분석하고 15분 간격으로 Sampling하여 각각의 MLSS 및 PO₄³⁻-P농도를 분석한다.

3. 실험결과

3.1. EBPR 미생물 안정화

혐기-간헐폭기 공정의 유기물질, 질소, 인에 대한 처리효율을 살펴보았다(Fig. 4~Fig. 6). 유기물질의 유출수는 COD가 평균 8.44 mg/L로서, 평균제거율이 97.3%이었다. 암모니아성질소는 유출수 평균농도가 2.44 mg/L이었고, 제거효율은 89.4%이며, 인의 경우는 유출수 평균농도가 1.4 mg/L, 제거효율은 80.1%로 질소와 인제거 모두 원활히 수행된 상태에서 안정화 됨으로서, 본 반응조의 미생물은 EBPR기전을 수행하고 있음을 보여주었다.

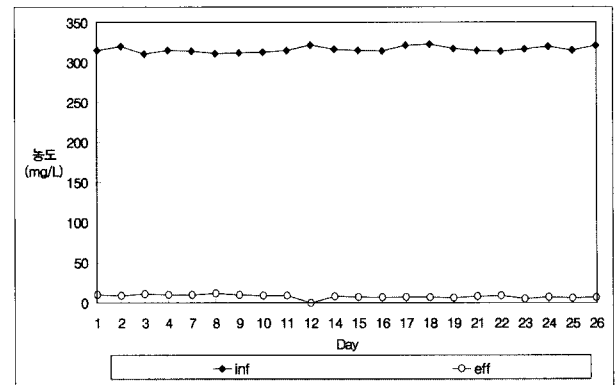


Fig. 4. COD removal efficiency.

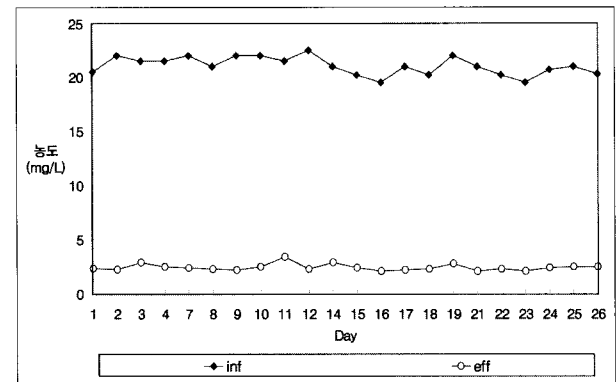


Fig. 5. NH₄⁺-N removal efficiency.

3.2. 혐기성 상태에서의 인방출 및 저장 물질 합성 실험

본 Batch 실험은 EBPR반응이 우수하게 일어나는 배양조가 배치된 혐기-간헐폭기 공정 내에서 인축적미생물에 의한 세포내 저장물질 합성의 관계를 확인하기 위해 이루어

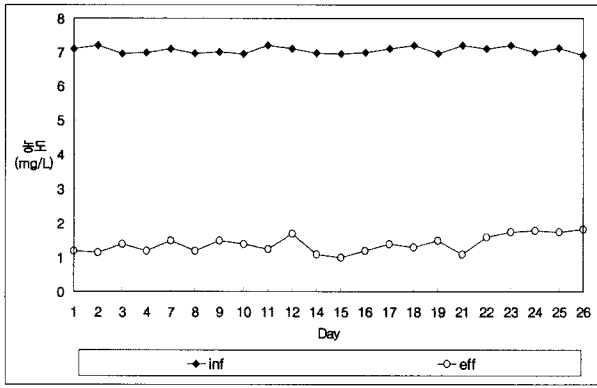


Fig. 6. PO₄³⁻-P removal efficiency.

졌다. 혐기성 상태에서 충분한 인의 방출현상이 진행될수 있도록 하기 위하여, 슬러지내에 인이 최대로 축적되는 간헐폭기조 말단에서 폭기가 끝나는 시점에 슬러지를 채취하였고, 슬러지와 기질이 접촉하는 시점에서 바로 혐기성 반응이 진행될 수 있도록 슬러지는 Sampling 직후 약 30분간 질소가스로 폭기하여 혐기성 상태(ORP 100mV이하)를 유지시켜 주었다.

Fig. 7에서 보여주는 것처럼 49mg/L as COD_{Cr}의 탄소성 기질이 세포내로 흡수되었다. 일반적으로 혐기성 상태에서의 탄소성 기질제거율에 비하면 매우 낮은 제거율을 보여주는데 그 이유는 Sampling 직후 고액분리를 위해 실시한 원심분리에 의해 세포벽 표면에 흡착상태로 존재하는 기질이 주변의 여액으로 재방출 되었기 때문으로 보여진다. 이 결과에 의하면 EBPR공정의 초기에 존재하는 혐기조에서 생흡착에 의해 제거되는 탄소성 기질의 양은 저장물질 합성이나 세포합성에 소모되는 양만큼이나 많은 비중을 차지하는 것으로 사료된다.

혐기성 상태에서 충분한 기질과 접촉함으로써 증가된 세포의 양은 COD 값으로 55mg/L였다(Fig. 8). ASM II model의 가정대로 혐기성 상태에서 SCFAs 형태의 탄소성 기질이 주어지고 탈질이 일어나지 않는 경우, 탄소성 기질은 세포합성과 PHA 등의 저장물질의 합성에 소모된다. Fig. 9은 이상의 가정을 기초로 한 혐기성 상태에서의 저장물질 및 세포합성량을 COD에 의해 측정된 결과이며 Fig. 10은 이때의 인 방출량을 나타낸 것이다.

혐기성 반응중의 세포합성량을 보정해 주기 위해 다음과 같은 실험을 실시하였다. PHA는 섭취단계의 상태보다 환원된 중합체이기 때문에 합성 및 저장에는 환원력이 요구된다. PHA합성에 환원력의 생성을 억제하기 위해 이미 인이 충분히 방출된 상태의 슬러지를 Sampling하여 동일한 조건에서 혐기성 반응을 진행시켰다. 이 실험에서 세포합성에 의한 증가량은 15.6mg/L가 이루어졌고, 인의 방출은 거의 일어나지 않았다. 이상의 결과를 종합해서 PHA합성과 세포성장이 동시에 발생하는 경우의 COD증가량과 세포합성량에 의한 COD증가를 비교한 결과는 Fig. 11과 같으며 두 값의 차이를 저장물질 합성량에 의한 COD증가량으로 볼 경우 Fig. 12의 결과를 얻을 수 있다. PHA의 일반식을 CH_{1.5}O_{0.5}로 본다면 PHA-COD의 계수는 1.67 g COD/g

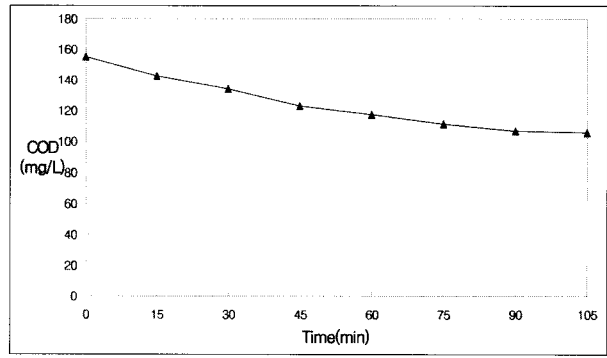


Fig. 7. Absorbed substrate concentration.

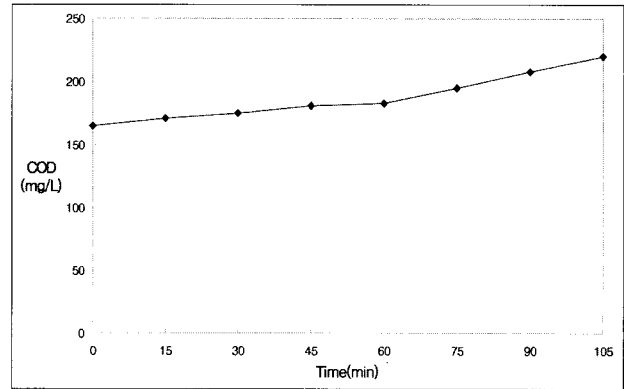


Fig. 8. TCOD increase by Cell and Intracellular storage polymer synthesis.

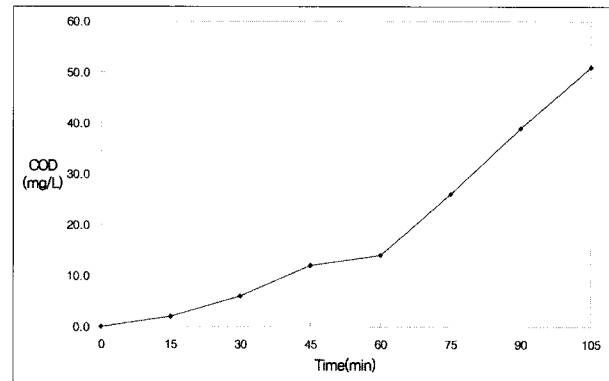


Fig. 9. Cell growth and intracellular storage polymer.

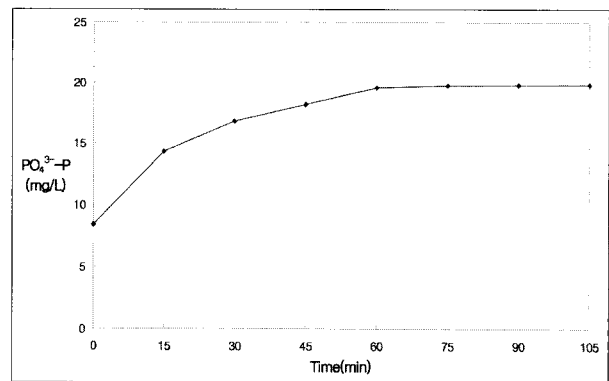


Fig. 10. PO₄³⁻-P release during anaerobic reaction.

PHA로 산정할수 있고, 이 계수를 통해 PHA의 농도를 환산하면 다음과 같은 값을 얻을 수 있다(Mino et al., 1998).

① Intracellular Storage Polymer 합성량

- PHA as COD = 35.4 mg/L
- PHA(mg/L) = 21.2 mg/L
- PHA(mg/g MLSS) = 28.8 mg/g MLSS

② Phosphorus 방출량

- P release = 11.43 mg/L

③ PHA synthesis/P release

= 1.8545 mg PHA/mg Phosphate

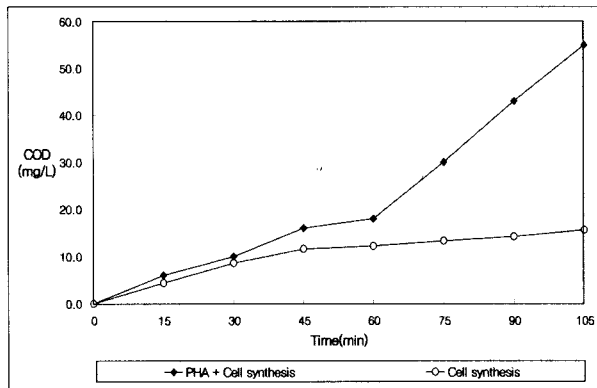


Fig. 11. PHA and Cell synthesis vs cell synthesis without PHA synthesis.

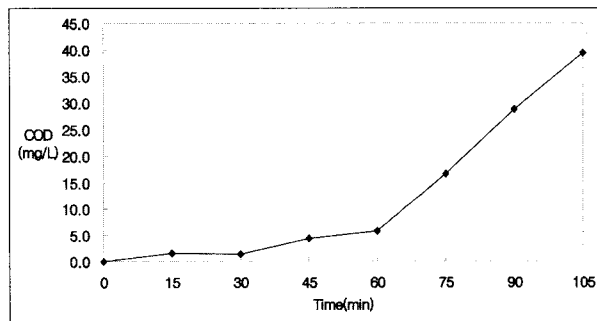


Fig. 12. Intracellular storage polymer increase (as COD).

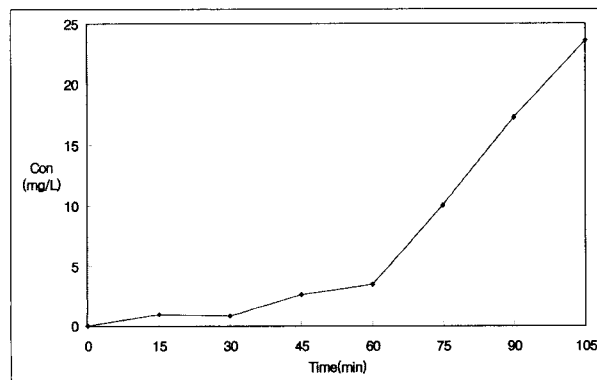


Fig. 13. Intracellular polymer concentration.

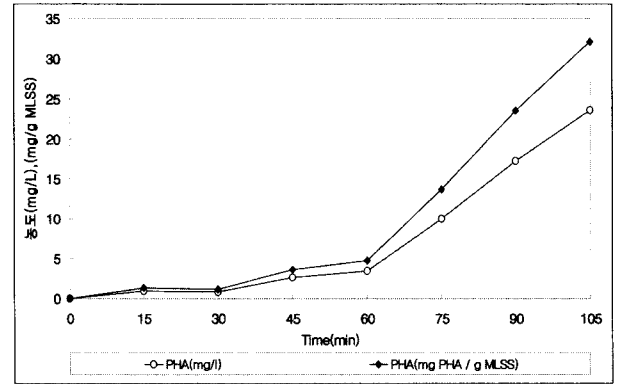


Fig. 14. Intracellular polymer conc (mg/L, mg/g MLSS).

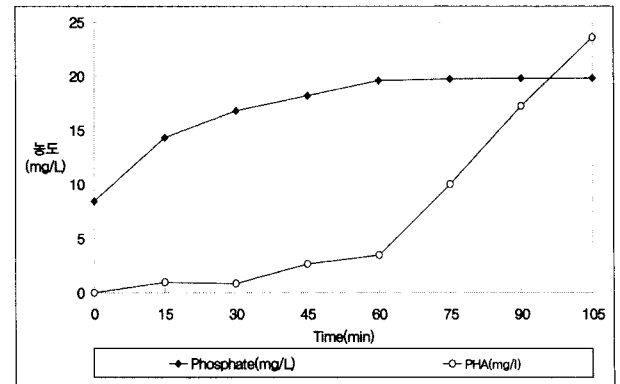
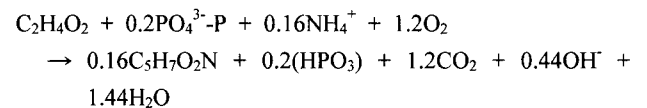


Fig. 15. Intracellular polymer synthesis and phosphorus release.

Fig. 15에서 보는바와 같이 혐기성 상태에서의 인방출은 반응초기에 급격히 이루어져서 45분이 경과한 이후부터 방출량이 줄어들기 시작하면서 60분 이후부터는 거의 방출이 이루어지지 않았다. 반면 저장물질의 합성은 초기에는 미비한 변화를 보여주었지만 인의 방출이 저해되기 시작하면서 증가하기 시작했으며, 인의 방출이 중지된 시점에서부터는 급격히 증가함을 볼수 있었다. 이는 저장물질 합성은 인방출에 의해 어느정도의 에너지가 축적된 이후부터 진행되기 때문으로 사료된다.

3.2.1. 반응에 사용된 Sludge중 PAOs Fraction 분석

회분식 실험에 사용된 Sludge중 PAOs의 fraction을 분석하기 위해 다음 식을 이용하였다(Shun et al., 2000).



이 식에 의하면 호기성 상태에서의 인섭취량 : PAOs 합성량은 1 : 2.92로 볼수 있다. 호기성 상태에서의 인섭취량을 분석하기 위해 인방출/섭취 실험을 실시하였다.

회분식 실험결과, 인축적량은 16.93mg/L가 이루어졌으며, 이는 Henze의 식에 의하면 49.37 mg/L의 PAOs에 의해 이루어지는 축적량이다. 회분식 실험에 사용된 슬러지는 반응

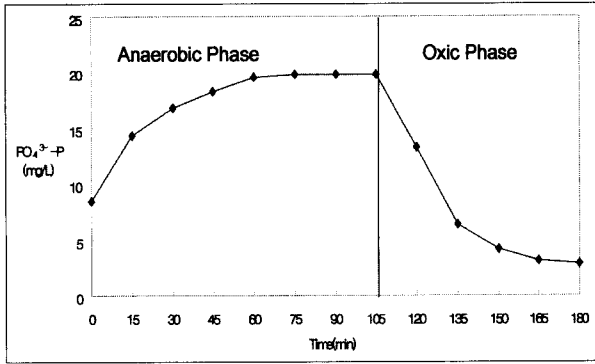


Fig. 16. P release / Accumulation.

초기에 720mg/L, 반응종결시에 735mg/L로 분석되었다. 그러므로 실험에 사용된 슬러지중의 PAOs fraction은 6.7 - 6.9%로 볼 수 있다.

이상의 결과를 종합해 보면 PAOs에 의한 Intracellular Polymer 합성량은 493mg PHA / g PAOs로 분석되었다.

4. 결론

1. 혐기- 간헐폭기 공정의 인제거반응의 조사결과, 본 실험에 사용된 미생물을 안정화시킨 반응조는 인제거율 80% 정도를 나타내었으며 회분식 실험결과 초기에 주입된 인농도의 혐기조에서 유입수 농도의 2-3배 가량의 인이 방출되었고 혐기성 상태에서의 인방출 이후 호기성 상태에서의 인축적을 역시 80% 이상으로, 우수한 인제거 효율을 보여주었다. 따라서 본 공정은 EBPR기전을 원활히 수행하는 상태라고 볼 수 있다.
2. 회분식 실험결과 인의 방출은 혐기성 상태에서 기질접촉후 30분이 경과하는 시점까지 급격히 진행되었으며 그 이후로는 더 이상의 인방출이 관찰되지 않았고, 저장물질의 합성은 45분까지는 이루어지지 않다가 인의 방출이 정지된 시점 이후부터 급격히 진행되는 것으로 조사되었다. 혐기성 상태에서의 PAOs에 의한 PHA합성 및 저장반응은 단계적 반응이며, 우선적으로 PHA합성에 요구되는 환원력이 어느 정도 확보된 이후에 이루어지는 것으로 사료된다. 이러한 단계를 결정하는 인자에 대한 추후 연구가 시행되어야 할 것으로 사료된다.

3. 세포내 저장물질 합성량 및 인방출량의 관계는 다음과 같이 조사되었다.

- ① Intracellular Storage Polymer 합성량
 - PHA(mg/L) = 21.2 mg/L
 - PHA(mg/gMLSS) = 28.8mg/g MLSS
- ② Phosphorus 방출량
 - P release = 11.43 mg/L
- ③ PHA synthesis/P release
 - = 1.8545 mg PHA/mg Phosphate

4. 회분식 실험결과, 본 실험에 사용된 슬러지의 PAOs의 fraction은 6.7-6.9% (49.37 mg/L)로 조사되었으며 PAOs에 의한 PHA합성량은 493mg/ g PAOs 로 조사되었다.

사 사

본 연구는 한국환경기술진흥원이 주관하는 차세대핵심환경기술개발사업 ‘하·폐수처리장의 Retrofit에 적합한 악취 및 영양염류 동시제거공정 개발’ 과제의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

전체옥, 이대성, 박종문, 연속 회분식 반응기에서 활성슬러지의 생물학적 인제거 특성, *대한환경공학회지*, **22**(8), pp. 1535-1544 (2000).

Grady, C. P. L., Henry, C. Lim., and Glen T. Daigger, *Biological wastewater treatment*, Second Edi., Marcel Dekker, Inc. New York, U. S. A., pp. 104-107 (1999).

Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, T., Wentzel, M. C. and Marais, G. v. R., *The Activated Sludge Model No. 2*, Scientific and Technical Report No. 3, International Association on Water Quality(IAWQ), London, U. K., pp. 53-73 (1995).

Mino, T., Van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J., Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process, *Water Research*, **32**(11), pp. 3193-3207 (1998).

Shun, H. C. and Chiao, F. O., The biomass fraction of heterotrophs and phosphate accumulating organism in a nitrogen and phosphorus removal system, *Water Research*, **34**(8), pp. 2283-2290 (2000).