

혐기-무산소-호기 반응조내 질화세균군의 변화

박종웅[†] · 이영옥* · 고준혁 · 라원식 · 임옥민 · 박지은*

대구한의대학교 보건환경학과 · *대구대학교 생명과학부

(2004년 6월 23일 접수, 2005년 1월 30일 채택)

Changes of Nitrifying Bacterial Populations in Anaerobic-Anoxic-Oxic Reactors

Jong-Woong Park[†] · Young-Ok Lee* · Jun-Heok Go · Won-Sik Ra · Uk-Min Lim · Ji-Eun Park*

Department of Health Environment, Daegu Haany University · *Division of Life Science, Daegu University

ABSTRACT : This study was carried out to investigate the changes of nitrifying bacterial populations including *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. in A²/O pilot plant with the configuration of anaerobic-anoxic-oxic reactors. The suspended nitrifying bacterial populations in mixed liquor and those of attached populations on granular carrier surface made by molded waste tire were analyzed by Fluorescent *in situ* Hybridization(FISH) method. The nitrification rate of a pilot plant showed the value of 1.97~2.98 mg N/g MLVSS · hr. The ratios of suspended ammonia oxidizer including *Nitrosomonas* sp. (NSO) to total bacteria in each reactor were oxia < anoxic < anaerobic. On the contrary, the ratios of suspended nitrite oxidizer including *Nitrobacter* sp. (NIT) were anaerobic < anoxic < oxia. The thickness, dry density and mass of the attached biomass on granular carriers were 180~188 μm, 38.5~43.9 mg/cm³, 29.4~32.5 mg/g, respectively. Also, the ratios of attached nitrifier to total bacteria on granular carriers were similar regardless of ammonia/nitrite-oxidizer (NSO; 3.2%, NIT; 2.8%) and very low compared to those (NSO; 22.8~28.4%, NIT; 17~26%) of suspended nitrifier.

Key Words : A²/O Pilot Plant, Nitrifier, Biofilm, FISH Method, Nitrification Rate.

요약 : 본 연구는 질화작용에 관여하는 *Nitrosomonas* sp. 등의 암모니아산화세균과 *Nitrobacter* sp. 등 아질산산화세균이 A²/O Pilot 장치의 혐기조, 무산소조, 호기조에서 어떤 양상으로 변화하는지를 조사하는데 있다. 혼합액의 부유 질화세균군과 페타이어로 성형 제조된 입상담체에 부착된 질화세균군은 FISH법으로 분석하였다. Pilot 장치의 질산화속도는 1.97~2.98 mg N/g MLVSS · hr의 값을 보였다. 각 반응조에서 총 부유 세균수중 암모니아 산화세균군(NSO로 검출된 세균군)이 차지하는 비율은 호기조 < 무산소조 < 혐기조 순이었으나, 이와 반대로 아질산 산화세균(NIT로 검출된 세균)이 차지하는 비율은 혐기조 < 무산소조 < 호기조 순이었다. 생물막의 두께와 건조밀도 및 담체 무게당 부착된 미생물량은 각각 180~188 μm, 38.5~43.9 mg/cm³, 29.4~32.5 mg/g이었고, 담체에 부착된 총세균수 중 질화세균이 차지하는 비율은 NSO(3.2%)와 NIT(2.8%)가 거의 비슷하였으나, 각 반응조에 존재하는 부유성 질화세균, 즉 NSO(22.8~28.4%)와 NIT(17~26%)에 비해서는 부착성 질산화 세균의 비가 현저히 낮았다.

주제어 : A²/O 파일럿 장치, 질화세균, 생물막, FISH법, 질산화 속도

1. 서론

하천 및 호소의 부영양화로 인한 수질악화, 상수원의 수질보호 등 환경보전에 대한 국민적 관심이 증대됨에 따라 정부는 2008년까지 연차적으로 180여 개소의 하수처리장 고도처리공정을 도입하고 하·폐수의 배출허용 기준을 단계적으로 강화할 계획이다. 또한 급속한 인구증가와 산업화에 따른 물 수요의 급증은 장래 수자원의 부족을 예고하고 있어 하수처리장의 방류수를 수자원으로서 재이용하려는 추세이다.¹⁾ 이에 정부, 기업체 및 연구기관에서는 기 개발된 고도처리기술과 새로운 기술의 접목을 위한 요소기술의 개발을 서두르고 있다. 그 중 영양염류를 제거하기 위한

A²/O공법은 국내뿐만 아니라 국외에서도 많이 이용되고 있는 고도처리공법이며, A²/O공법을 변형하여 그 성능을 높 이려는 연구가 활발히 진행되고 있다.^{1,2)} 그러나 폐수의 영양염류 제거율과 처리공정 상의 운영인자들 간의 상관성에 관한 연구들은 많지만 실제로 영양염류 제거에 관여하는 반응조 내의 세균군집 구조와 그 기능 등에 관한 연구는 연구방법상의 문제점 등으로 인해 아직 미미한 실정이다.^{3,4)} 폐쇄 생태계의 일종인 폐수처리시스템에서 폐수에 함유된 유기물질을 분해하는 세균의 군집구조를 분석하는 것은 처리시스템의 오염부하 및 처리효율, 오염원의 정성적 분포양상을 파악하는데 유용한 정보를 제공하기도 한다. 종전에 세균군집 구조분석에 사용하던 고전적인 방법인 배양기법에 의해 검출할 수 있는 세균군집의 크기는 실제로 존재하는 세균의 1% 미만에 불과하므로³⁾ 최근에는 16S rRNA 염기서열 분석법, Fluorescent *in situ* Hybridization(FISH), Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) 등의 분

[†] Corresponding author
E-mail: jwpark@dhu.ac.kr
Tel: 053-819-1417

Fax: 053-819-1272

자생물학적인 연구방법이 세균을 동정하고 그 군집구조를 monitoring하는데 사용되는 추세이다.⁴⁻⁶⁾

FISH법은 세포 내에 다량으로 존재하면서 변이가 심하지 않은 rRNA에 gene probe 즉, 이미 알려져 있는 rRNA database를 이용하여 제작한 다양한 세균군의 single strand DNA(oligonucleotides probes, 약 17-34 nts)를 교잡시켜(hybridized) 배양을 통하지 않고 직접 현장상태(in situ)의 세균군집을 동정하는 방법이다.

따라서 본 연구에서는 질소제거에 관여하는 질산화세균인 *Nitrosomonas* sp. 등의 암모니아산화세균과 *Nitrobacter* sp. 등의 아질산산화세균이 A²/O pilot 장치의 혐기조, 무산소조, 호기조에서 어떤 양상으로 변화하는지를 FISH법으로 분석하고자 한다.

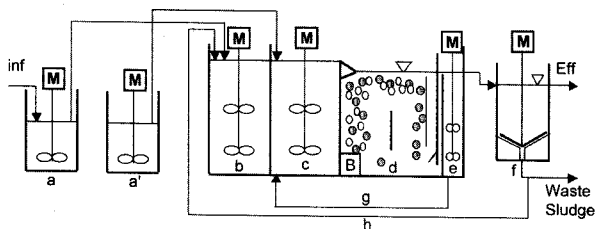
2. 실험장치 및 방법

2.1. 실험장치

본 실험에 사용된 A²/O pilot 장치는 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서 보듯이 생물반응조는 혐기조, 무산소조, 호기조 및 내부순환조로 구성되어 있으며, 유효용적은 각각 1.4 m³, 2.0 m³, 2.5 m³ 및 0.6 m³로 제작하였다. 호기조에는 크기, 평균무게 및 비표면적이 각각 4~10 mm, 0.0957 g, 0.0041±0.0009 m²/g인 특성을 가진 폐타이어로 성형 제조된 담체(Sam Kwang Aqua-Clear, Inc., Korea)를 부피비로 15% 충전하였다.

2.2. 운전방법

본 실험에서는 2003년 5월 20일부터 2003년 9월 15일까지 약 115일간 Table 1에 제시한 Y 하수처리장 1차 침전지 유출수를 유입수로 사용하여 운전하였으며, 유입수의 수질은 BOD와 COD가 39.1~62.9 (51.2) mg/L와 62.8~92.6 (79.2) mg/L이었고 COD/T-N비와 SCOD/T-N비가 3.4~4.3 (3.9), 2.0~2.8 (2.4)로 낮은 값을 보였다. Table 2는 pilot 장치의 운전조건을 나타내었다. Table 2와 같이 유입유량, 내부순환율 및 슬러지 반송율은 각각 24 m³/day, 150% 및 50%로 운전하였고, SRT는 18일이었다. 호기조의 공기주입



M : Motor
 B : Blower
 a : Wastewater tank
 a' : External carbon source tank
 b : Anaerobic reactor
 c : Anoxic reactor
 d : Oxic reactor
 e : Internal return reactor
 f : Sedimentation tank
 g : Internal recycle
 h : Return activated sludge

Fig. 1. Schematic diagram of A²/O pilot.

Table 1. Characteristics of sewage primary effluent

Item	Range	Mean ± S.D.
pH	6.9~7.3	7.2±0.1
Alkalinity (mg as CaCO ₃ /L)	112~132	124.4±7.9
BOD (mg/L)	39.1~62.9	51.2±8.6
COD (mg/L)	62.8~92.6	79.2±11.1
SS (mg/L)	46.0~76.0	62.3±10.8
T-N (mg/L)	16.3~23.2	20.2±2.7
NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	9.7~14.8	12.2±1.7
T-P (mg/L)	1.6~2.1	2.0±0.3
COD/T-N	3.4~4.3	3.9±0.2
SCOD/T-N	2.0~2.8	2.4±0.2

Average ± Standard deviation

Table 2. Summary of operating conditions

Item	Value	
Q (m ³ /day)	24	
HRT(hr)	Anaerobic reactor	1.4
	Anoxic reactor	2.0
	Oxic reactor	2.5
SRT(days)	18	
S · R*(%)	50	
I · R**(%)	150	
Air flowrate (m ³ /min)	0.3	
Injection ratio(SCOD/NO ₃ ⁻ -N)of external carbon source in anoxic reactor	3.8	
Filling fraction(%)***	15	

* ; Sludge return ratio, ** ; Internal return ratio, *** ; Volume of carrier per volume of reactor

량은 0.3 m³/min이었으며, 조내 DO농도는 2.8~3.2 mg/L이었다. 또한 탈질효율을 증진하기 위하여 무산소조에는 음식물쓰레기를 가수분해조, 산발효조, 초음파분해 및 고액분리장치를 이용하여 제조한 산발효액을 외부탄소원으로 주입하였다. 주입한 산발효액의 평균성상은 pH 6.1, BOD 48,460 mg/L, COD 73,440 mg/L, T-N 2,181 mg/L, T-P 326 mg/L이었다. 외부탄소원의 주입기준은 용해성 유기물이 고농도인 산발효액을 희석수와 함께 혼합한 후 희석된 산발효액의 SCOD와 무산소조의 NO₃⁻-N비가 3.8이 되도록 매일 240 L씩 정량 주입하였다.

2.3. 분석방법

2.3.1. FISH법을 이용한 부유성/부착성 질화세균군의 측정

각 반응조에서 채취한 액상시료인 mixed liquor는 곧바로 아래의 방법으로 고정하였고 담체에 부착된 세균은 담체를 멸균증류수에 넣고 5회/sec 속도로 흔들어서 세균을 탈리시킨 후 다른 mixed liquor와 동일한 방법으로 행하였다.

1) 시료의 고정; 슬러지 시료(= mixed liquor)를 10-100배 희석한 후 곧바로 4% paraformaldehyde solution (시료 : 4% paraformaldehyde solution = 1:2)로 24시간 이상 고

Table 3. Oligonucleotide probes with their targeted organisms

Probe	Sequence	Target site (<i>E.coli</i> rRNA positions)	Target organisms	Formamide (%)	Reference
NSO190	5'-CGATCCCCTGCTTTTCTCC-3'	16S (190-208)	Ammonia-oxidizing bacteria including <i>Nitrosomonas</i>	55	No. 8
NIT3	5'-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3'	16S (1030-1047)	Nitrite-oxidizing bacteria including <i>Nitrobacter</i>	40	No. 3

정시켰다. 고정된 시료를 14,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음, 상등액은 버리고 pellet을 phosphate buffered saline(PBS) 1 mL로 washing한 다음, 다시 0.5 mL PBS에 resuspension시킨 후, teflon-coated slide glass(Cel-line)에 적당량(5-8 μL)의 시료를 올려놓고 공기 중에 건조시켰다. 시료가 slide에 잘 정착되었다고(immobilized) 판단되면 50%, 80%, 99%의 ethylalcohol에 3분간 차례로 담가 탈수시킨 후 다시 공기 중에 건조시켰다.

2) Gene probes; 본 연구에서 사용한 gene probe인 NSO190와 NIT3은 Table 3과 같이 주문 제작(TaKaRa, Japan)하여 사용하였으며 각 probe에 붙인 형광물질은 CY3 (indocarbocyanine dye)이다.

3) In situ Hybridization; Ethylalcohol이 완전히 건조되었을 때 미리 예열시켜 둔 16 μL의 hybridization solution [0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.01% SDS, formamide(NSO 55%; NIT 40%)에 각각의 gene probe(100 ng/μL) 3 μL를 첨가하여 잘 섞은 후, 46°C에서 90분간 hybridization chamber에서 배양하였다. 이때 *Nitrobacter* sp.을 포함하는 아질산산화세균의 경우, mismatching을 방지하기 위해 gene probe, NIT3에 동일한 양의 CNIT3 probe를 첨가하여 교배시켰다.⁵⁾ 배양 후 세척은 배양온도보다 2°C 높은 온도인 48°C에서, 15분 동안 행했는데 이때 사용하는 washing solution [20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0.01% SDS, 0.056 mM NaCl]은 미리 예열시켜 사용하였다. 세척 후, 총세균수 측정을 위한 DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 염색 (0.33 μg/mL)을 5분간 암실에서 실행한 후, 형광현미경(Axioplan 2, Zeiss)으로 관찰·계수하였다.

4) 질화세균 및 총세균수 산출; 질화세균군의 크기는 신뢰성 있는 결과를 얻기 위해 각 반응조의 시료 당, 최소한 15개 이상의 임의적인 fields안에 존재하는 해당 세균을 계수하여 얻어진 평균값을 역시 동일한 fields의 DAPI로 염색된 세균수(총세균수)에 대한 비율(%)로 산출하였다.⁶⁾

2.3.2. 부착미생물량의 정량화

담체의 부착미생물량 측정은 Fig. 2에서 제시한 측정방법⁷⁾에 따라 조내의 담체를 10개씩 5개의 그룹으로 나누어 채취하여 미생물이 부착된 매체의 표면수를 제거한 후 부착된 습윤무게를 측정하고 초음파 세정과 알칼리처리를 병행하여 탈리시킨 후 건조하여 미생물의 건조무게와 함수율을 측정하였다. 측정된 부착미생물의 젖은무게와 건조무게로부

터 Park, Ganczarczyk and Zahid 등⁷⁻⁹⁾이 제시한 계산식을 이용하여 생물막두께, 생물막 건조밀도 그리고 매체 단위면적당 부착된 미생물량을 산정하였다.

$$\text{생물막 두께}(\mu\text{m}) = \frac{1}{\rho_f} \frac{\text{부착미생물의 젖은무게}(g)}{\text{매체의 표면적}(m^2)} \quad (1)$$

ρ_f : 젖은 미생물의 밀도(g/cm³)

$$\text{생물막 건조밀도}(mg/cm^3) = \frac{\text{부착미생물의 건조무게}(g)}{\text{생물막 두께}(\mu\text{m}) \times \text{매체표면적}(m^2)} \times 1000 \quad (2)$$

$$\text{매체 단위면적당 부착미생물량}(mg/cm^2) = \frac{\text{부착미생물의 건조무게}(g)}{\text{매체 표면적}(m^2)} \times \frac{1}{10} \quad (3)$$

2.3.3. 수질분석

반응조 내 수질조사 항목은 수온, pH, DO, ORP, MLSS, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N 및 NO₃⁻-N이었으며, 측정방법은 환경오염공정시험법¹⁰⁾과 Standard Methods¹¹⁾의 절차에 따라 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 이·화학적 변화 및 처리성능

본 Pilot 장치의 생물 반응조내 수온은 25.3~29.7°C로 유지되었고, 혐기조, 무산소조, 호기조의 pH는 각각 7.0~7.2, 6.8~7.1, 6.7~7.2이었으며, 이때 Alkalinity는 98~128, 84~106, 70~84 mg/L as CaCO₃로 나타났다. 또한 혐기조, 무산소조, 호기조의 ORP는 각각 -387~-254 mV, -362~-239 mV, 146~175 mV이었고, DO의 경우 혐기조, 무산소조에서는 거의 검출되지 않았으며, 호기조에서는 2.8~3.2 mg/L이었다. 이는 질산화작용에 관여하는 세균들 즉, *Nitrosomonas* sp.와 *Nitrobacter* sp. 등의 최적 성장조건으로 알려진 수온 25~30°C, pH 7.5~8.0^{12,13)}와 거의 유사하였으며, ORP와 DO 역시 질산화세균의 활동에 적당하였다. 아울러 각 반응조가 연속적으로 배열되어 있기 때문에 혐기조, 무산소조, 호기조의 MLSS농도는 2,780~2,900 mg/L로 거의 유사한 범위를 보였으며, 이때 MLVSS/MLSS비는 0.67~0.72이었다.

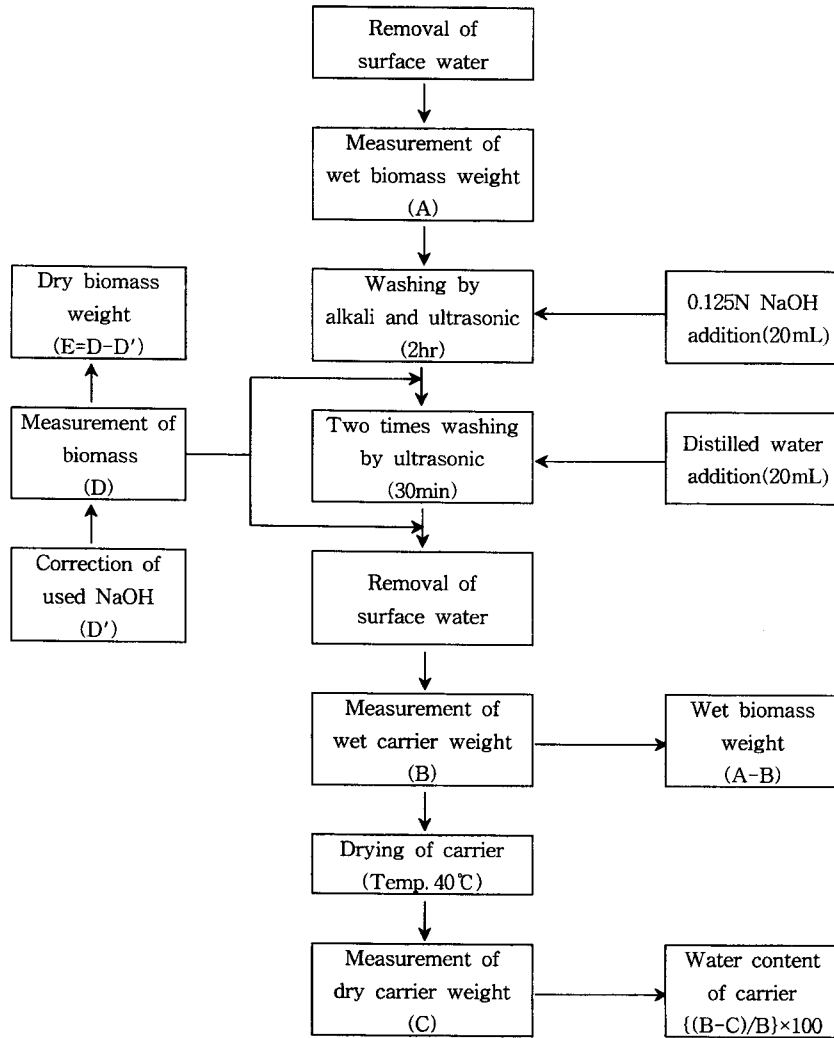


Fig. 2. Measurement method of attached biomass.⁷⁾

한편 유입수와 각 반응조의 처리수질 및 제거효율은 Table 4에 요약 정리하였다. Table 4에서 보듯이 최종유출수의 BOD, COD, SS 및 T-N, T-P의 평균농도는 각각 7.6 mg/L, 16.7 mg/L, 9.6 mg/L와 2.5 mg/L, 0.9 mg/L로 양호한 수질을 얻을 수 있었다. 특히 T-N은 87.7%의 높은 제거효율을 보였으며, NH₄⁺-N 역시 최종유출수에서 거의 검출되지 않았다. 본 A²O 공정에서 높은 질소 제거효율을 보인 것은 「2.2 운전방법」에서 언급하였듯이 무산소조에 외부탄소원 주입으로 탈질효율이 증진되었기 때문이다.

3.2. 질산화 속도

질산화 속도는 실제 0차 반응으로 볼 수 있으며, 암모니아성 질소의 감소속도 또는 아질산성질소와 질산성질소의 증가속도로 나타내는 경우가 많다. 본 연구에서 사용된 질산화속도는 다음 식 (4)으로 표현된다.

$$K_n = \frac{Q \times [(NH_4^+ - N)_{inf.} - (NH_4^+ - N)_{eff.}]}{V_{Oxic} \cdot X \cdot 24} \quad (4)$$

Table 4. The result of treatment performance in each reactor

Item	Influent	Anaerobic	Anoxic	Oxic	Effluent	Removal efficiency(%)
BOD (mg/L)	51.2 ± 8.6	(24.2 ± 1.4)	(18.2 ± 0.8)	(5.8 ± 0.6)	7.6 ± 0.8	84.7 ± 3.6
COD (mg/L)	79.2 ± 11.1	(39.8 ± 2.5)	(30.9 ± 2.4)	(13.4 ± 1.1)	16.7 ± 0.5	78.5 ± 2.9
SS (mg/L)	62.3 ± 10.8	-	-	-	9.6 ± 0.7	84.1 ± 3.3
T-N (mg/L)	20.2 ± 2.7	14.3 ± 0.8	8.7 ± 0.5	2.7 ± 0.4	2.5 ± 0.4	87.7 ± 0.6
NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	12.2 ± 1.7	4.8 ± 0.4	2.3 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	99.9 ± 0.3
T-P (mg/L)	2.0 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.2	55.3 ± 3.1

Average ± Standard deviation, () : SBOD or SCOD

여기서, Q는 유입수량(m³/day)이고, (NH₄⁺-N)_{inf.}는 유입 암모니아성 질소농도(mg/L)이며, (NH₄⁺-N)_{eff.}는 유출 암모니아성 질소농도(mg/L)이다. 또한 V_{Oxic}는 호기조의 용량(m³)이며, X는 호기조의 MLVSS 농도(mg/L)이다.

Fig. 3는 Pilot 장치의 반응조내 NH₄⁺-N, NO₂⁻-N 및 NO₃⁻-N의 농도변화를 나타내었다. Fig. 3에서 보듯이 혐기조, 무산소조, 호기조의 NH₄⁺-N는 각각 4.1~5.5, 1.9~2.9, 0.0~0.1 mg/L이었고, NO₂⁻-N는 0.0~0.1, 0.0~0.1, 0.2~0.5 mg/L이었으며, NO₃⁻-N는 0.0~0.1, 0.0~0.1, 1.2~2.2 mg/L이었다. 이와 같이 체류시간 동안 호기조내에서 제거된 NH₄⁺-N는 NO₂⁻-N와 NO₃⁻-N으로 전환되었으며, 전환된 NO₃⁻-N는 내부순환조에서 무산소조로 반송시킴으로써 탈질과정을 통해 대부분 제거된 것으로 나타났다.

또한 유입수의 COD/T-N비가 3.4~4.2이고 T-N/BOD의 비가 0.37~0.42일 때 식 (4)를 이용하여 산출한 Pilot 장치의 질산화속도는 1.97~2.98 mg N/g MLVSS · hr로써 Randall 등¹⁴⁾이 제시한 T-N/BOD비가 0.21일 경우 SRT가 5~30일 범위에서 SNR이 0.5~1.9 mg N/g MLVSS · hr와 비교하여 볼 때 다소 차이를 보였다. 이는 반응조내 T-N/BOD비의 영향 뿐 만 아니라 호기조내에 존재하는 부유, 부착미생물중 질산화 세균의 원활한 활성 때문인 것으로 판단된다.

3.3. 각 반응조에서의 질산화세균 변화

질산화작용(nitrification)은 암모니아를 아질산으로 산화시키는 암모니아 산화세균군(ammonia-oxidizing bacteria; NSO)과 아질산을 질산으로 산화시키는 아질산 산화세균군(nitrite-oxidizing bacteria; NIT)의 연속적인 반응에 의해 일어난다.⁵⁾

암모니아 산화세균군을 동정하는데 사용된 NSO190 probe에 의해 검출이 가능한 세균들에는 *Nitrosomonas* sp., *Nitrosococcus mobilis* sp., *Nitrospira* sp. 등이 있으며¹²⁾ 이 세균군은 β-subclass proteobacteria 속한다.

반면에 아질산 산화세균을 동정하는데 사용한 NIT3 probe에 의해 검출이 가능한 세균들은 *Nitrobacter winogradsky*와 *N. hamburgensis* 등 *Nitrobacter* sp.로써 α-subclass proteobacteria에 포함되는 것으로 알려졌다.¹²⁾

Fig. 4에서 보는 바와 같이 총 세균수에서 *Nitrosomonas* sp. 등, 암모니아 산화세균이 차지하는 비율은 혐기조(28.4%), 무산소조(26.1%), 호기조(22.8%) 순이었다. 그러나 *Nitro-*

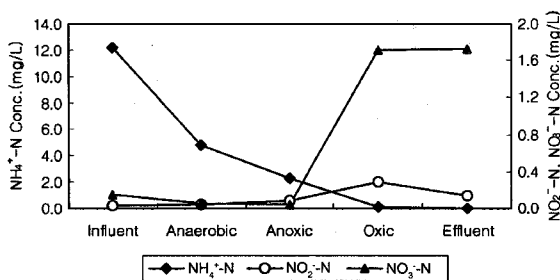


Fig. 3. The variation of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N and NO₃⁻-N concentration in each reactor.

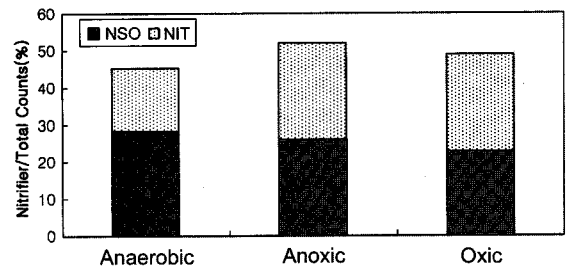


Fig. 4. The dynamics of *Nitrosomonas* (NSO) and *Nitrobacter* (NIT) in each reactor.

bacter sp. 등, 아질산 산화세균이 차지하는 비율은 호기조(26.0%), 무산소조(25.8%), 혐기조(17.0%) 순으로 역상관 관계를 나타내었으며, 이때 혐기조, 무산소조, 호기조의 질소제거효율은 각각 42.4%, 31.0%, 13.4%인 것으로 나타났다. 이와 같은 질산화세균의 역상관성은 NO₂⁻/NH₄⁺의 ORP(+340 mV)와 NO₂⁻/NO₃⁻의 값(+430 mV) 차이와도 관련이 있을 것으로 판단된다.¹⁵⁾ Hunik 등^{16,17)}이 질산화세균의 활성에 영향을 미치는 환경인자를 추적한 결과, 기질인 NH₄⁺, NO₂⁻의 농도는 암모니아 산화세균인 *Nitrosomonas europaea*의 활성에 악영향을 미치지 않으나 해리되지 않은 HNO₂는 아질산 산화세균인 *Nitrobacter* sp.의 활성을 저해한다고 하였다. Schramm 등¹⁸⁾은 O₂와 연계해서 생물막에서 질산화세균군을 FISH법으로 검색했는데 산소가 질산화세균의 개체수와 그 활성에 제한요인으로 작용한다고 보고하였다. 그러나 본 연구결과에서는 용존산소가 거의 검출되지 않은 혐기조와 무산소조에서도 상당수의 질산화세균이 검출되었다. 이는 운전특성상 혐기조에 반송된 슬러지 중에 다량으로 함유된 질산화 세균의 영향과 호기조의 질산화 수가 무산소조로 높은 내부반송을 때문인 것으로 사료된다.

3.4. 담체 부착세균의 성장 및 세균수

부유 미생물 응집체와 담체에 부착된 미생물의 물리적 특성에 대한 측정결과를 Table 5에 요약 정리하였다. Table 5에서 보듯이 호기조 내의 부유미생물의 농도는 2,780~2,900 mg/L이었고, 부유성 및 부착된 총 미생물의 농도는 4,194~4,386 mg/L로 총 미생물중 부착미생물이 차지하는

Table 5. Characteristics of suspended and attached biomass in oxic reactor

Suspended	Concentration(mg MLSS/L)	2,780~2,900 (2,850)
	Biomass (kg)	7.0~7.3 (7.1)
Attached	Water content (%)	95.7~96.2 (95.9)
	Thickness (μm)	180~188 (185)
	Density (mg/cm ³)	38.5~43.9 (41.3)
	Biomass per surface area (mg/cm ²)	0.7~0.8 (0.8)
	Biomass per carrier wt (mg/g)	29.4~32.5 (31.4)
	Biomass (kg)	3.4~3.8 (3.6)
Attached biomass/Total biomass (%)		32.0~35.0 (33.5)
Total biomass concentration (mg MLSS/L)		4,194~4,386 (4,280)

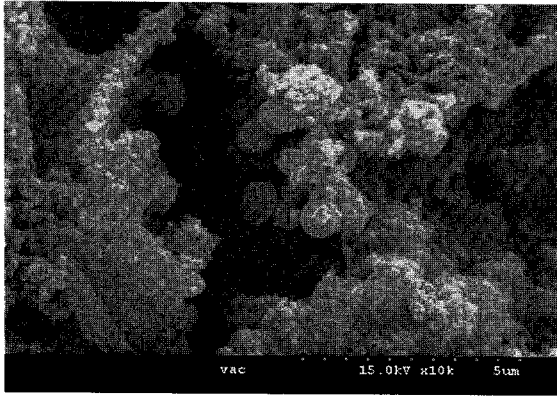


Fig. 5. SEM micrograph of attached bacteria on granular carrier surface.

비율은 33.5%이었다. 담체에 부착된 생물막의 함수율 및 건조밀도는 각각 95.7~96.2%, 38.5~43.9 mg/cm³로 박 등¹⁾이 연구한 95~97%, 36~48 mg/cm³와 비교하여 볼 때 거의 유사하게 나타났다. 한편 생물막 두께는 180~188 μm이었으며, 담체의 무게 당 부착미생물량은 29.4~32.5 mg/g으로 나타났다.

Fig. 5는 담체에 부착된 미생물(즉 세균상)을 나타내는 SEM사진으로 담체에 많은 세균과 유기물질들이 여러 층으로 부착되어 있음을 알 수 있다. 담체에 부착된 미생물을 FISH법으로 분석한 결과, 총 부착된 세균수중 암모니아 산화세균과 아질산 산화세균이 차지하는 비율은 각각 3.2%, 2.8%로 비슷하였으나, 각 반응조에 존재하는 부유성 질산화세균인 암모니아 산화세균(22.8~28.4%)과 아질산 산화세균(17~26%)에 비해서는 부착성 질산화세균의 비가 현저히 낮은 것으로 나타났다. 이처럼 담체에 부착된 질산화세균량이 작은 것은 조내에서 담체가 회전하면서 계속적인 부착과 탈리가 일어나는 반면, 부유성 미생물의 경우는 운전특성상 슬러지 반송으로 질산화 세균의 유지가 가능하기 때문이다. 또한 조내의 미생물량의 분포를 살펴보면, 부착 미생물량이 부유미생물량에 비해 약 33.5%로 적기 때문이다(Table 5 참조). 한편 일반적으로 조내 미생물량(M)의 지표로 사용되고 있는 MLVSS는 살아있는 세균이외에 죽은 세균과 순 유기물이 포함되어있어 이에 대한 명확한 구분 이 필요하다.

4. 결론

폐타이어 담체를 충전한 A²/O Pilot 장치의 생물 반응조 내에서의 질소순환의 결과는 다음과 같다.

1) 반응조내에서 NH₄⁺-N는 NO_x-N로 거의 전환되었으며, 질산화속도는 1.97~2.98 mg N/g MLVSS · hr이었다.

2) FISH법으로 각 반응조에서의 질산화세균 군집구조를 분석한 결과, 암모니아 산화세균의 수는 호기조 < 무산소조 < 혐기조 순으로 나타났으나, 아질산 산화세균의 경우에는 혐기조 < 무산소조 < 호기조 순이었으며, 이때 혐기조, 무산

소조, 호기조의 질소제거효율은 각각 42.4%, 31.0%, 13.4%로 나타났다.

3) 생물막의 두께와 건조밀도 및 담체무게 당 부착미생물량은 각각 180~188 μm, 38.5~43.9 mg/cm³, 29.4~32.5 mg/g이었고, 담체에 부착된 암모니아 산화세균(3.2%)과 아질산 산화세균(2.8%)이 총세균수에서 차지하는 비율은 비슷하였으나, 각 반응조의 부유성 암모니아 산화세균(22.8~28.4%)과 부유성 아질산 산화세균(17~26%)에 비해서는 부착성 질산화 세균의 비가 현저히 낮았다.

참고문헌

1. 박종용, 송영해, “오·폐수의 고도처리를 위한 호기성 침지형 생물막 여과장치의 개발,” 대한환경공학회지, **20**, 305~314(1998).
2. Metcalf & Eddy, Inc., Wastewater Engineering : Treatment Disposal Reuse, 3rd ed., McGraw-Hill Book Co., New York, 663~759(1991).
3. Amann, R., Ludwig, W., and Schleifer, K. H., “Phylogenetic and in situ detection of individual microbial cells without cultivation,” *Microbiol. Rev.*, **59**, 143~169(1995).
4. Wilderer, P. A., Bungartz, H. J., Lemmer, H., Wagner, M., Keller, J., and Wuertz, S., “Modern scientific methods and their potential in wastewater science and technology,” *Water Res.*, **36**, 370~393(2002).
5. Wagner, M., Rath, G., Koops, H.-P., Floos, J., and Amann, R., “In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants,” *Water Sci. Technol.*, **34**, 237~244(1996).
6. Glöckner, F. O., Fuchs, B. M., and Amann, R., “Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3721~3726(1999).
7. 박종용, 송주형, “폐타이어로 성형제조된 부정형 과립 담체에 부착된 미생물의 측정방법,” 대한상하수도학회지, **17**, 255~260(2003).
8. Park, J. W. and Ganczarczyk, J. J., “Gravity separation of biomass washed-out from an aerated submerged filter,” *Environ. Technol.*, **15**, 945~955(1994).
9. Zahid, W. M. and Ganczarczyk, J. J., “Suspended solids in biological filter effluents,” *Water Res.*, **24**, 215~220(1990).
10. 환경교육연구회, 환경오염공정시험법(수질편), 대학서림, 서울(2000).
11. APHA, AWWA, WEF, Standard Method for Examination of Water and Wastewater, 18th ed., Washington, D.C.(1992).
12. Schramm, A., DE Beer, D., Wagner, M., and Amann,

- R., "Identification and activities in situ of *nitrospira* and *nitrospira* sp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor," *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3480~3485(1998).
13. U.S.EPA, Manual Nitrogen Control, EPA/625/R-93/010, Washington, D.C.(1993).
 14. Randall, C. W., et al., Design and Retrofit of Wastewater Treatment Plants for Biological Nutrient Removal, Technomic Publishing Co. Inc (1992).
 15. Madigan, T. M., Martino, J., and Parker, J., Block Biology of Microorganisms, Prentice Hall Publisher(2003).
 16. Hunik, J. H., Meijer, H. J. G., and Tramper, J., "Kinetics of nitrobacter agilis at extreme substrate, product and salt concentrations," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**, 442~448(1993).
 17. Hunik, J. H., Meijer, H. J. G., and Tramper, J., "Kinetics of *nitrosomonas europaea* at extreme substrate, product and salt concentrations," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 802~807(1992).
 18. Schramm, A., Larsen, L. H., Revsbech, N. P., Ramsing, N. B., Amann, R., and Schleifer, K. H., "Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes," *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 4641~4647(1996).