부유 및 부착성장 질화균에 미치는 구리 독성의 영향

Effect of Copper toxicant on Suspended and Attached Growth Nitrifying Bacteria

김금용 · 백주헌 · 이상일 †
Keum-Yong Kim · Joo-Heon Paek · Sang-Ill Lee †

충북대학교 공과대학 환경공학과
Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University

(2008년 7월 2일 접수, 2009년 9월 2일 채택)

ABSTRACT : The effect of toxicant on the inhibition of nitrification was investigated, using concentrated nitrifying bacteria of both attached and suspended growth. This nitrifying organism was originally obtained from the activated sludge of sewage treatment plant and cultivated for more than three months. The object of this experiment is to determine the effect of the specific surface area and the growth condition of nitrifying bacteria on toxicity of heavy metal. The results of this study were as follows. The specific surface area of both attached and suspended growth of nitrifying organism was proven to be a major factors in determining the inhibition of nitrification of heavy metal such as Cu^{++}ion.

When the condition of attachment and detachment was compared in an experiment using attached growth nitrifier, the effect on toxicant was 1.12 times less in attached condition than in detached condition for *Nitrosomonas*, and 1.09 times less for *Nitrobacter*. In case of suspended growth nitrifier, the effect on toxicant was 1.46 times less in non-ground condition than in ground condition for *Nitrosomonas*, and 1.35 times less for *Nitrobacter*. Also, similar results were obtained in a set of experiments, without adding nitrite to the substrate. In an experiment that compared attached condition using attached growth nitrifier with detached condition using attached growth nitrifier, the effect on toxicant was 1.83 times less in attached condition than in detached one for *Nitrosomonas*, and 1.78 times less for *Nitrobacter*. In case of suspended growth nitrifier, the effect on toxicant was 1.27 times less in non-ground condition than in ground condition for *Nitrosomonas*, and 1.32 times less for *Nitrobacter*.

Key words : *Attached growth organism, Suspended growth organism, Specific surface area, Toxicant*

요약 : 본 연구에서는 질산화 반응이 활발히 진행되고 있는 기존 하수처리장 슬러지를 이용하여 3개월 이상 농축 배양한 후에 부착 및 부유성장 상태로 적응시킨 질화균을 이용하여 독성물질에 대한 영향을 조사하였다. 본 실험의 목적은 부유 및 부착성장 질화균을 이용하여 이들의 비표면적에 따른 독성물질의 영향을 상호비교하기 위한 것이다. 이를 위하여 부유 및 부착상태의 농축 질화균의 비표면적을 다르게 하여 각각에 대한 독성물질의 영향을 조사하였다. 연구 결과 부착성장 질화균 및 부유성장 질화균의 경우 비표면적이 클수록 독성에 대한 영향을 더 많이 받는 것으로 나타났다. 부착상태와 탈착상태의 질화균을 사용한 실험에서, 독성물질에 대한 영향은 탈착상태보다 부착상태에서 독성의 영향을 적게 받았으며, *Nitrosomonas*의 경우에는 1.12배, *Nitrobacter*의 경우에는 1.09배 독성의 영향을 적게 받았다. 부유성장 질화균을 사용한 경우에는 분쇄 전보다 분쇄 후에 독성의 영향을 더 크게 받았으며, *Nitrosomonas*의 경우에 1.46배, *Nitrobacter*의 경우에 1.35배 독성의 영향을 적게 받았다. 또한, 기질에 아질산염을 주입하지 않고 실험한 결과에서도 유사한 결과를 얻었다. 부착상태와 탈착상태의 질화균을 사용한 실험에서, 독성물질에 대한 영향은 탈착상태보다 부착상태에서 독성의 영향을 적게 받았으며, *Nitrosomonas*의 경우에는 1.83배, *Nitrobacter*의 경우에는 1.78배 독성의 영향을 적게 받았다. 부유성장 질화균을 사용한 경우에는 분쇄 전보다 분쇄 후에 독성의 영향을 더 크게 받았으며, *Nitrosomonas*의 경우에 1.27배, *Nitrobacter*의 경우에 1.32배 독성의 영향을 적게 받았다.

주제어 : 부착성장 미생물, 부유성장 미생물, 비표면적, 독성물질

1. 서 론

질화균의 낮은 성장률과 pH, 용존산소, 온도 및 독성물질에 대한 높은 민감도는 일반적으로 생물학적 질소제거에서 질산화 반응조의 크기를 결정하기 위한 단계로 고려되고 있다.[1,2] 생물학적 폐수처리 공법은 미생물의 성장상태에 따라 일반적으로 부착성장 및 부유성장으로 나눠진다. 공법 운영시 미생물의 부착 및 부유성장 특성 외에 미생물의 비표면적을 얼 만큼 확보하느냐가 관건이 될 수 있다. 비표면적의 증가는 부지의 축소를 가져올 수 있기 때문에 반응시 비표면적

† Corresponding author : E-mail : gatorlee@chungbuk.ac.kr Tel : 043-261-2469 Fax : 043-272-2469

의 증가는 매우 중요한 인자가 될 수 있다. 기존의 재래식 활성슬러지 공법은 부유성 미생물을 이용한 처리법이 대부분이었으나 이는 폐 슬러지 발생량이 많고 부지 소요가 크다는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 각종 메디아를 이용한 부착성장 미생물을 이용한 공법연구가 활발히 진행 중이다. 특히 질화균은 일반 활성슬러지내의 미생물보다 성장 속도가 느리기 때문에 체류시간을 더 길게 요구하는 것이 일반적이다. 따라서 한정된 공간에서 단시간에 질산화를 이루기 위해서는 질화균의 농축이 반드시 필요하다. Bitton의[3] 연구에 의하면 질화균은 기질에 의한 저해를 받으며 또한 폐수에서 발견되는 여러 독성화합물에 매우 민감하다고 보고하였는데 이들 화합물은 대부분이 *Nitrobacter* 보다 *Nitrosomonas*에 상대적으로 큰 독성을 나타내는 것으로 간주된다. 독성화합물은 효소의 촉매반응을 억제시키는 요인이 되고 있으며, 질화균에 가장 큰 독성을 나타내는 화합물은 시안, 치오우레아(thourea), 페놀, 중금속(은, 수은, 니켈, 크롬, 구리, 아연) 등이다. 이들 물질이 독성을 나타내는 정도는 독성물질마다 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다.

부착성장 미생물 중에서 여재 표면 근처의 미생물들은 기질농도가 높기 때문에 빠른 성장을 보이나 표면 아래쪽은 기질이 부족한 상태이다. 용존산소 역시 막 내부로 확산되어 호기성 대사에 이용되는데, 생물막이 두꺼워지면서 표면에서 산소가 소모되므로 막 내부에는 산소가 상대적으로 부족 될 수 있다. 또한 부유성장 미생물의 경우도 미생물 플럭이 크면 표면 근처에는 미생물들의 기질농도가 높기 때문에 빠른 성장을 보이나 플럭 내부에는 기질이 부족한 상태가 되며, 용존산소 역시 표면에 비하여 부족한 상태가 될 수 있다. 일반적으로 처리공정에서 부착미생물을 이용할 경우는 미생물량의 증대로 유기물 및 독성물질의 처리효율이 증진되는 것으로 간주되지만,[7] 부착 및 부유성장 미생물의 비표면적에 따라 독성저해와 관련된 연구는 거의 없다.

따라서 본 연구에서는 부유성장 질화균 및 부착성장 질화균을 이용하여 이들의 비표면적에 따른 독성물질(Cu)의 영향을 상호 비교하였다. 이를 위해 부착 및 부유성장 질화균에 대한 독성물질의 영향에 대하여 각각 조사하였다. 즉 동일한 조건에서 성장한 부착성장 질화균이 부착 여재로부터 탈리된 경우와 부착된 상태에서 독성물질에 대한 영향이 어떻게 달라지는지 각각 조사하였다. 또한 부유성장 질화균의 경우, 잘 배양된 농축질화균을 일정시간 분쇄한 후 분쇄 전후의 독성물질에 대한 영향을 조사함으로써 접촉 상태에 따른 독성 영향을 상호 비교하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 농축질화균의 배양

본 연구에서는 질화 반응이 활발히 진행되고 있는 C시 하수처리장의 폭기조 슬러지를 이용하여 질화균에 대한 독성물질의 영향을 알아보았다. 일반적으로 질화반응이 진행되는 활성슬러지 내 질화균은 전체 미생물의 2~5% 존재한다.[8] 외부 환경인자의 영향을 검토하기 위해서는 질화균 이외의 유기물 분해균인 종속영양(heterotrophics) 미생물의 간섭을 배제하기 위하여 슬러지를 특정조건에서 농축시켜 독립영양(autotrophics) 미생물만을 성장시킨 후 영향을 관찰하였다. 우선 20 L 반응기에 수돗물을 18 L 넣은 후 채취된 활성슬러지(MLSS 3,000 mg/L) 2.0 L를 혼합하여

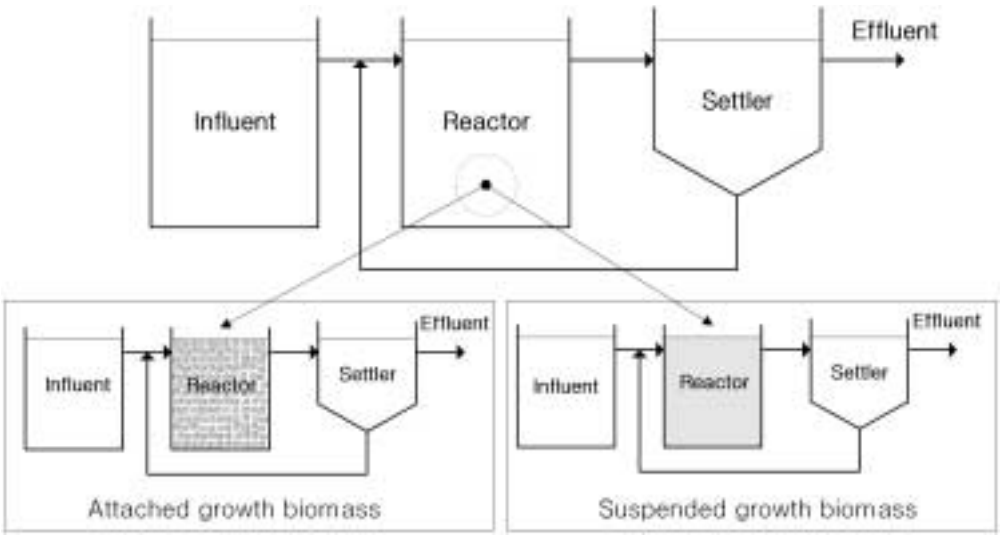

Fig. 1. Schematic diagram of continuous reactor for enriched nitrifying organism.

Table 1. Stock feed composition for nitrifying organism

Composition	content, g/L
Ammonium chloride(NH_4Cl)3.5 Sodium bicarbonate($NaHCO_3$) Calcium chloride($CaCl_2$) 0.048	10.5
Magnesium sulfate($MgSO_4 \cdot H_2O$)	0.039
Ferric chloride($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	0.002
Phosphate buffer	
Potassium phosphate monobasic(KH_2PO_4)	0.014
Potassium phosphate dibasic(K_2HPO_4)	0.038
Disodium hydrogen phosphate($NaHPO_2 \cdot 7H_2O$)	0.058
Water : tap water	

포기하였다. 배양 초기 3 개월 동안은 회분식으로 운영하였으며 3개월 후에는 부유성장 질화균과 부착성장 질화균으로 각각 나누어 배양하였다(Fig. 1). 반응조를 2 조로 나누어 1 조는 폭기만을 시켜주는 부유 성장상태를 유지하였으며, 다른 1 조에는 메디아(Linpor)를 30% (v/v) 주입하여 부착 성장상태로 다시 3개월 이상 운전하였다. 부착성 질화균의 배양시 이용된 Linpor 메디아는 cubic type이며, size는 12×12×16 mm인 것을 이용하였다. 기질 주입시 반응조 내 암모니아의 농도가 처음 1 개월간은 50 mg/L가 유지되도록 주입하였고, 단계적으로 주입량을 증대시켜 3 개월 후 질소부하율이 약 18 mg N/L · hr로 유지시켰다. 초기 3개월간의 회분식 배양의 경우에 기질 주입은 2 회/일로 하였으며, 30분 침전시켜 상등수의 1/3을 유출시킨 후 같은 양의 기질을 주입하였다. 본 연구에서 질화균 배양을 위해 주입된 기질의 조성은 Table 1과 같다. 3개월 후 연속식으로 운전모드를 변경시킨 후에는 침전 슬러지를 유입 유량의 100%를 반송시켜 주었고, 반응조의 내부는 온도 조절기를 이용하여 온도를 25~30℃로 유지하였다. 용존산소는 air pump를 이용하여 반응조 내의 용존산소가 3~4 mg/L를 유지되도록 연속포기 하였다(Fig. 1). 또한 자가영양 미생물만을 유지하기 위하여 빛을 차단시킨 상태에서 배양하였다. 배양이 진행됨에 따라 농축질화균의 냄새는 흙냄새로 전환됨이 관찰되었으며, MLSS의 색깔은 갈색을 띤 검은 색(brownish/black)에서 붉은 색을 띤 갈색(reddish/brown)으로 변하였다. 이렇게 배양된 질화균을 이용하여 일반적인 활성슬러지와 질산화 속도를 비교해 보니, 약 3~5배 정도 더 큰 것으로 나타났다.

2.2. 접촉 상태에 따른 질화균의 물질전달

여재의 크기에 따른 독성 영향을 통하여 비표면적에 따른 독성조사를 실시한 연구 결과는 발표된 바가 있으나[9] 부착 및 부유성장 질화균의 접촉 상태에 대한 연구 보고는 전무한 상태다. 따라서 독성물질과 질화균의 접촉된 상태에 따라서 물질전달이 달라지는 경향을 알아보기 위한 예비실험으로 본 실험이 수행되었다. 부착성장 질화균의 경우에는 여재 층의 깊이에 따라 물질전달이 달라지기 때문에 여재의 깊숙한 곳까지 물질전달이 이루어 지는 데는 어느 정도 한계가 있다(Fig. 2). 따라서 이러한 영향을 확인하기 위하여 부착상태의 질화균을 스펀지 여재로부터 탈리시킨 후 독성이 없는 상태에서 질화율을 측정하였고, 이 값을 부착상태에서의 질화율

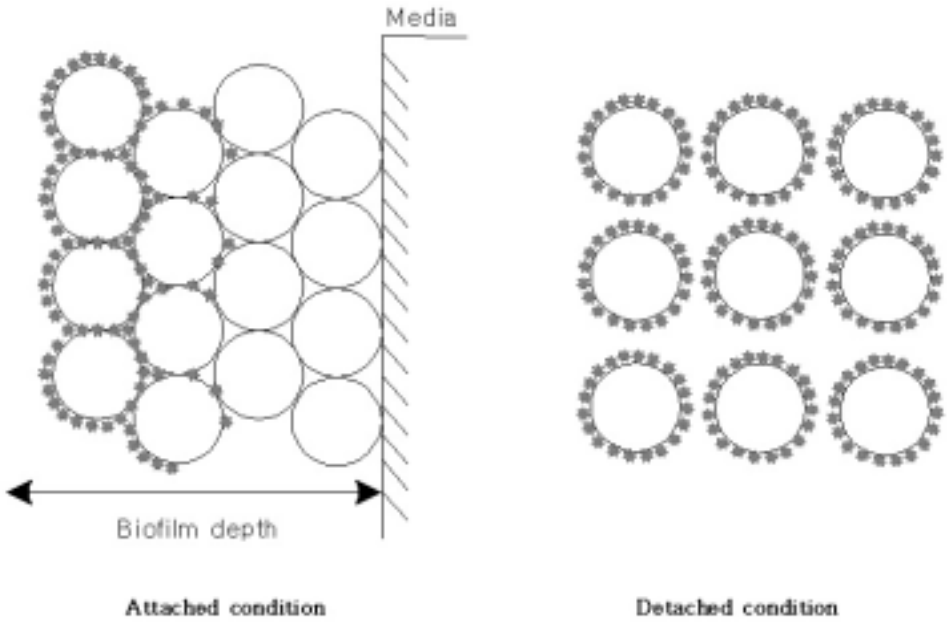

Fig. 2. Schematic diagram of behavior of toxicant to attached and detached microorganisms (: indicates toxicant).

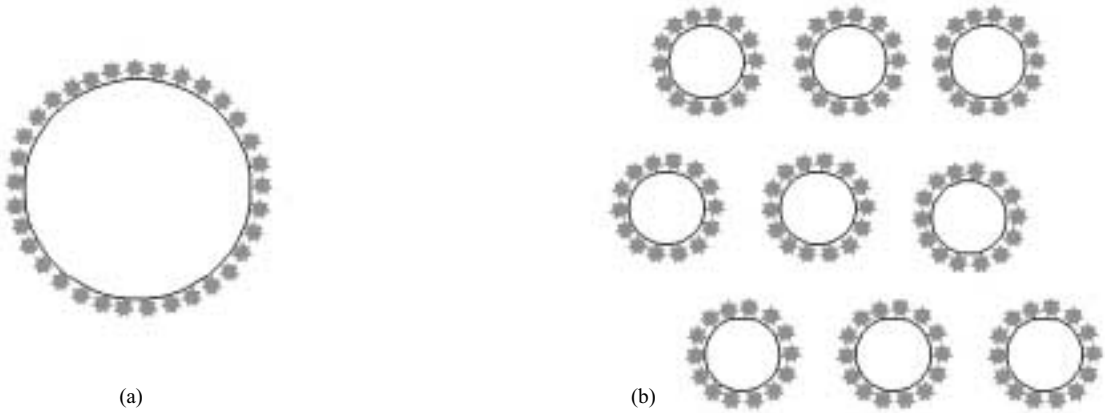

Fig. 3. Schematic diagram of behavior of toxicant to grinded and non-grinded suspended microorganisms (: indicates toxicant).

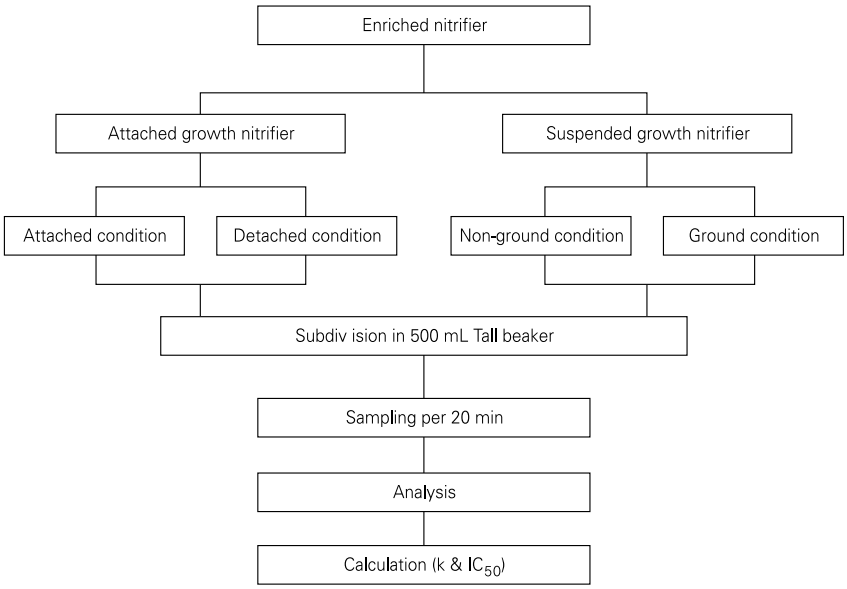

Fig. 4. Experimental diagram of this study.

과 상호 비교하였다. 부유성장 질화균에 대한 접촉상태의 영향을 알아보기 위하여 동일한 농도의 질화균을 준비하였다. 플럭의 크기에 따라서 동일한 양의 미생물 양이라도 플럭이 작으면 작을수록 물질전달이 좋아진다는 것을 확인하기 위하여 부유 상태로 성장한 질화균을 분쇄하여 Fig. 3a과 같은 상태로 만든 후 기질 소비율을 비교하였다. 분쇄시간을 0.5, 1.0 및 1.5 분으로 달리하여 분쇄하지 않은 질화균과 상대 비교하였다. 모든 실험은 2.3 절에서와 같은 방법으로 실시하였다.

2.3. 실험 방법

본 연구는 부착성장 농축 질화균을 이용하여 부착 및 탈착 상태에 따른 독성물질의 영향을 알아보기 위하여 수행하였다. 반응조로부터 부착성 질화균을 취하여 메디아로부터 질화균을 털어낸 후 별도의 용기에 모은 후 붙어있는 상태의 질화균과 비교하였다. 반응시 암모니아성 질소원으로 sodium chloride (NH_4Cl)을 주입하였고, 완충액으로는 sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)를 사용하였다. 또한 Nitrobacter의 활동을 고려하여 아질산성 질소원으로 sodium nitrite ($NaNO_2$)를 주입하여 두 부류의 질화균들이 초기부터 원활히 활동할 수 있도록 하였다. 본 연구를 위하여 2.1절에서 설명된 방법에 의하여 잘 배양된 부착 및 부유성장 질화균을 수세하여 준비하였다. 부착성장 질화균의 경우 부착된 상태와 탈리된 상태에서의 독성영향을 각각 비교하기 위하여 부착상태의 질화균을 여재로부터 탈리시켰다 (Fig. 2). 부유성장 질화균의 경우는 잘 배양된 질화균의 플럭을 임의로 해체시키기 위하여 분쇄기(HANIL ELECTRIC MIXER, HMF-340)를 이용하여 플럭의 크기를 작게 하였

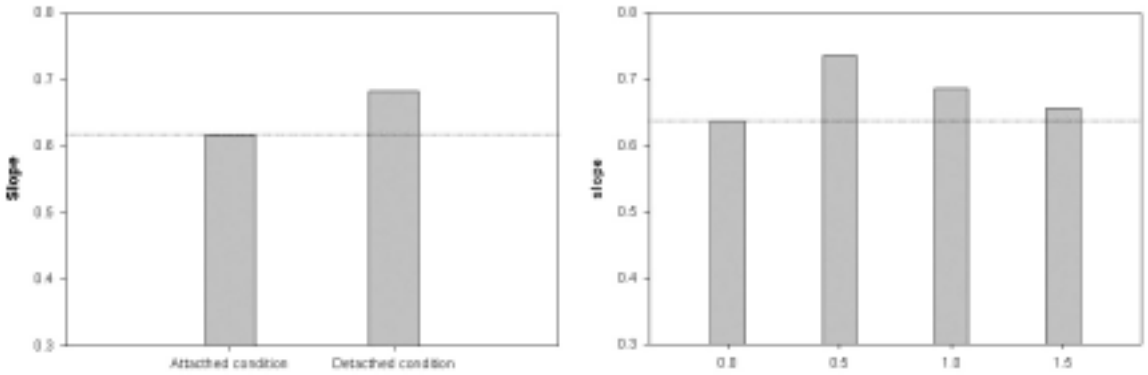

Fig. 5. Substrate consumption ratio according to contact condition (Left: Attacthed biomass; Right: Suspended biomass).

다(Fig.3). 한편 본 실험은 동일한 실험과정에 대하여 두 가지 종류의 기질을 가지고 상호 비교하였는데, *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 활동이 동시에 이루어지는 경우를 보기위하여 2가지의 기질(sodium chloride, sodium nitrite)을 사용한 경우와 *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 활동에 대한 영향을 중점적으로 보기위하여 한 가지 기질(sodium chloride)만을 사용한 경우로 나누어 진행함으로써 nitrite의 유무에 따른 영향을 조사하였다(Fig. 4). 일반적으로 생물학적 폐수처리시 질화 반응은 암모니아성 질소가 아질산성 질소로 산화되며 이후 질산성 질소로 산화되는 반응을 의미하는데, NH_4^+-N에서 NO_2^--N로 산화시에 대표적으로 관여하는 것은 *Nitrosomonas*속(*N. europaea, N. oligocarbogenes, N monocella*)이고 NO_2^--N에서 NO_3^--N로 산화시에 대표적으로 관여하는 *Nitrobacter*속(*N. agilis, N. winogradsky*)인 것으로 보고되고 있다.[10]

질산화과정이 진행되면 $NH_4^+ \rightarrow NO_2$ 의 생성, $NO_2 \rightarrow NO_3$ 의 생성 과정[11]을 거치게 되는데 질산화 과정에서 생성된 NO_2 량이 부족하게 되면 질화과정이 진행되는데 제약을 받게 된다. 따라서 본 연구에서는 이러한 제약에 대한 영향을 비교해 보기 위하여 아질산염의 주입 여부에 따른 영향을 조사하였다.

준비된 모든 질화균은 수세한 후 실험 시작 1시간 전에 수세한 슬러지를 25℃의 온도가 유지되고 있는 항온조로 옮긴 후 미리 시험 기질의 10% 농도에 순응시켜 두었다. 본 실험에서는 초기에 주입된 기질에 의한 영향을 배제하기 위하여 충분히 침전시킨 후 상등액을 폐기한 후 침전된 질화균만을 취하여 각각의 경우에 대한 독성물질의 영향을 상호 비교하였다. 이때 주입된 기질은 동일하게 온도가 유지되는 조건에서 각각의 시료에 기질(70 mg NH_4^+-N/L와 20 mg NO_2^--N/L 및 70 mg NO_3^--N/L)을 주입하였다. 또한 상등액 폐기 후에도 남아있을 가능성이 있는 기질의 농도를 고려하여 기질 주입즉시 시료를 채취하여 초기 값으로 하였다. 본 연구에서는 독성물질로 구리(Cu)를 사용하였으며, 각각의 농도를 다르게 한 상태에서 미생물과 접촉시킨 후 일정시간 간격으로 분취하였다.

기질 및 독성물질을 주입한 시점부터 일정시간 간격으로 시료를 채취하여 반응조의 NH_4^+-N, NO_2^--N 및 NO_3^--N를 측정하였으며 모든 분석은 Standard method[12]에 준하여 분석하였으며, 이 측정값을 이용하여 반응속도(k)를 구하였다. 반응속도는 반응조 내의 미생물 농도로 나누어 단위 미생물 당 질산화율로 표준화하여 비교하였다. 메디아에 부착된 미생물 농도는 실험 전 후에 메디아로부터 질화균을 탈리시킨 후 MLSS를 측정하여 평균값으로 계산하였다.

주입된 독성물질 농도의 변화에 따른 미생물의 활성도는 독성물질의 접촉이 없는 경우를 대조군(control) 반응조로 하여 독성물질을 접촉한 경우와 비교 실험하였다. 각각의 경우에 대한 저해율(%)의 계산은 식 (1)에 의거하여 구하였다. 본 실험에서 얻은 독성물질의 각 농도에 대한 반응조의 활성슬러지와의 활성도 관계는 대조군과 비교하여 독성물질의 증가에 따른 저해율(%)을 구하였다.

$$Re = \frac{k_i - k_x}{k_i} \times 100 \quad (1)$$

여기서, Re는 미생물이 독성물질에 대해 피해를 받는 저해율(Inhibition, %)을 나타내며, k_i는 독성물질이 존재하지 않을 경우의 기질소비속도를 나타낸다. 또한 k_x는 독성물질이 존재하여 피해 받았을 때의 기질소비속도를 나타낸다. IC_{50}을 구하기 위해 각 농도에서 구한 inhibition(%)을 식 (2)로 변환

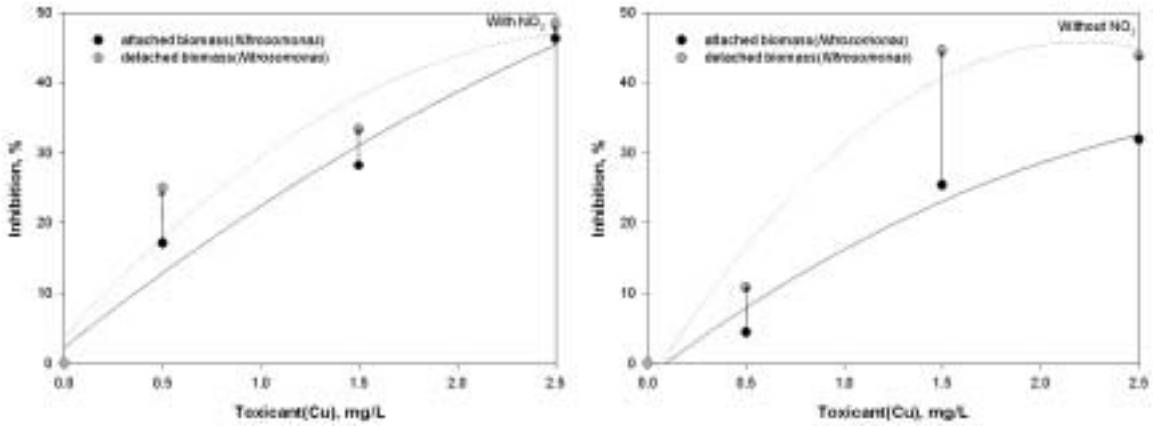

Fig. 6. Relationship between inhibition of ammonia consumption rate and addition of toxicant and nitrite with attached nitrifying organisms.

하여 직선 형태로 변환시킨 후 최소자승법으로 최적의 직선식을 도출하였다.[13] 이때 log Γ가 0 일 때의 독성물질의 농도가 IC_{50} 값이 된다.

$$\log \Gamma = \log\left(\frac{Re}{100 - Re}\right) \quad (2)$$

IC_{50} 값이 작음은 독성도가 높음을 의미하며, IC_{50} 값이 큰 경우는 독성도가 상대적으로 낮음을 의미한다. 따라서 Re IC_{50} 값이 클수록 값이 작아지게 되는 것을 알 수 있다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 접촉상태에 따른 질화균의 물질전달

독성물질과 질화균의 접촉상태에 따른 물질 전달을 알아보기 위한 실험을 통하여 확인한 결과 표면적과 물질전달의 관계에 일정한 법칙이 작용하고 있는 것이 확인되었다. 즉 비표면적을 넓게 한 경우 기질 소비율이 증가한 것이 관찰되었으며 이는 물질 전달율이 증가한 것을 의미한다. 물질전달이 높다는 것은 기질과 접촉할 수 있는 가능성이 높은 것을 의미하여 결과적으로 독성물질이 존재할 경우 독성물질과의 접촉 기회도 증가된 것으로 보인다.

부착성장 질화균의 기질 소비율을 통한 물질전달 실험에서는 부착상태보다 탈착상태의 기질 소비율이 1.1배 높은 것으로 나타났다(Fig. 5). 이는 부착상태에서는 여재 깊숙한 곳까지는 물질전달이 제대로 이루어지지 않기 때문에 기질 소비율이 탈착상태에 비하여 작은 것으로 보이며, 반면 탈착상태는 부유성장 상태와 동일한 조건이므로 물질전달이 균등하게 이루어졌기 때문에 상대적으로 기질 소비율이 높게 관찰된 것으로 판단된다. 임 등의 연구 결과에 의하면 여재의 깊이에 따라 미생물의 개체수가 다르며 산소전달율도 다르게 나타난다고 보고하였는데,[14] 여재에 부착된 상태에서 질화균의 기질 소비는 주로 표면에서 이루어졌을 것으로 사료된다.

또한 부유성장 질화균의 기질 소비율을 구하기 위한 실험에서는 잘 배양된 질화균을 이용하였다. 분쇄시간이 각각 0.5, 1.0 및 1.5분으로 늘어남에 따라 분쇄전과 비교해서는 기질 소비율이 증가하는 경향을 보였으나 10분 이상 분쇄하게 되면 오히려 기질 소비율이 감소하는 결과를 보였다. 이는 분쇄시간을 10분 이상 두게 될 때 분쇄시에 상승한 온도에 의하여 미생물에 저해를 주게 되므로 대조군에 비하여 기질소비율이 감소한 것으로 판단된다. 따라서 본 연구결과에서는 대조군과 비교하여 기질소비율이 증가한 경우를 대상으로 하여 연구를 진행하였으며 이에 대한 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

3.2. 부착성장 질화균의 부착 및 탈착에 따른 영향

본 실험은 Linpor 메디아를 충진한 연속 배양조로부터 부착성장 미생물을 취하여 미생물이 메디아에 부착된 상태와 탈착된 상태에서 각각의 독성물질의 농도에 따른 영향에 대하여 검토하였다. 부착상태의 질화균과 탈착상태의 질화균은 사전에 충분한 예비실험을 통하여 재현성을 확인하고 난 후에 본격적으로 실험에 임하였으며 모든 경우에 있어서 기질의 제거속도는 독성물질의 농도가 증가함에 따라 비반응 속도가 감소되는 것을 알 수 있었다.

탈착상태의 질화균과 부착 상태의 질화균을 독성물질(Cu)에 접촉시킨 경우 IC_{50} 값은 각각 2.68 및 3.55 mg/L로 나타나 부착상태의 질화균보다는 탈착상태의 질화균이 독성에

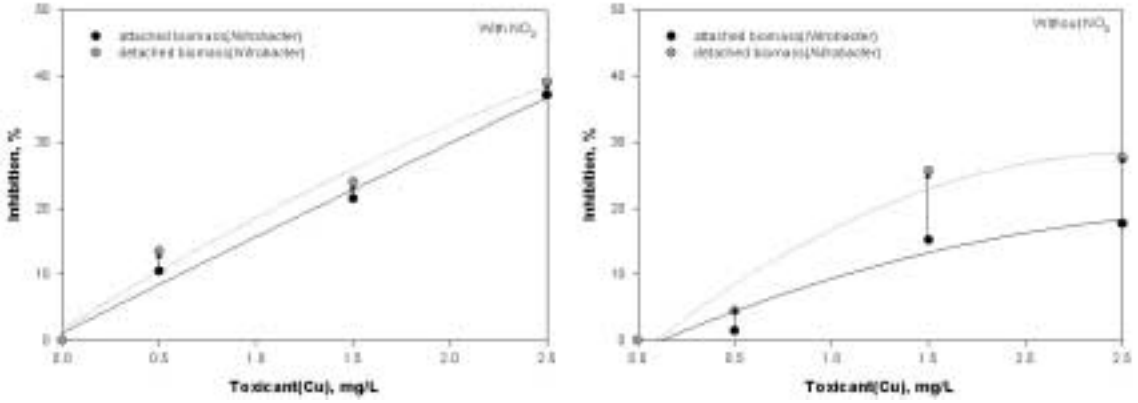

Fig. 7. Relationship between inhibition of nitrate production rate and addition of toxicant and nitrite with attached nitrifying organisms.

더 민감하게 반응을 하는 것이 관찰되었다. 이것은 똑같이 부착상태로 성장하던 미생물이라도 여재에 부착된 상태로 독성에 노출되는 경우에는 탈착된 상태로 독성에 노출되는 경우와 달리 여재 내부까지 독성이 미치지 못했기 때문에 독성의 영향을 적게 받은 것으로 판단된다. 또한 독성물질이 여재 표면에 있는 미생물의 세포외 폴리머에 흡착되어 내부로 침투되는 양이 저감되었기 때문으로 사료된다. 본 연구에서도 질화균은 pH에 많은 영향을 받으며 일반적으로 pH가 낮아짐에 따라 기질 산화율이 떨어지는 것으로 알려져 있는데 본 연구에서는 질산화 반응을 위한 충분한 pH를 유지하기 위하여 최적의 pH인 7.3 이상을 유지하여 실험을 진행하였다.

Fig. 6은 아질산염의 존재 유무에 따라 *Nitrosomonas*의 저해 정도를 나타낸 것이다. 기질에 아질산염이 포함된 경우, 독성물질(Cu)의 농도가 0.5, 1.5, 2.5 mg/L로 증가함에 따라 부착상태 보다 탈착상태의 질화균이 각각 1.46, 1.18, 1.05배 독성을 더 크게 받는 것으로 나타났으며 독성농도가 증가할수록 두 부류의 미생물간의 저해 정도는 줄어드는 것이 확인되었다. 기질에 아질산염이 포함되어 있지 않은 경우는 각각 2.43, 1.76, 1.37배 더 크게 저해를 받은 것으로 나타났다. 즉 비표면적을 달리한 경우 비표면적을 넓게 한 경우에서 독성에 대한 영향을 더 많이 받는 것으로 나타나 아질산염의 존재 유무에 따른 암모니아 소비율은 아질산염이 존재시에 *Nitrosomonas*에 대한 독성의 영향이 상대적으로 적게 받는 것으로 나타났다. 이것은 아질산염이 존재하지 않는 경우는 질산화 반응 초기에 *Nitrobacter*의 활동이 활발하지 않고 주로 *Nitrosomonas*에 의해서 반응이 진행되나, 아질산염이 존재하는 경우에는 초기부터 *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 두 미생물이 동시에 활발하게 작용을 하였기 때문에 독성에 대한 영향이 분산되었기 때문인 것으로 사료된다. 이는 Cu^{2+} 농도가 증가됨에 따라 기질제거율이 낮아져 저해율이 증가된다는 원 등의 연구와도 일치하는 결과이다. 또한 독성농도가 증가할수록 두부류의 접촉 상태에 따른 소비율의 차이가 감소되는 것은 일정 농도 이상으로 질화균이 독성에 노출되게 되면 활성이 떨어져 회복하는데 상당한 시간을 요하게 된다. 기존에 연구된 결과에 의하면 질화균에 50% 저해를 주는 농도를 IC_{50}으로 나타내었는데, Skinner는 0.1~0.5 mg/L[15], Loveless는 0.1 mg/L[16], Koopman은 0.5 mg/L[17]인 것으로 보고하였다.

아질산염의 존재 유무에 따라 *Nitrobacter*의 저해 정도를 나타낸 Fig. 7은 기질에 아질산염이 포함된 경우에 질산염의 생성율에 대한 영향에 대하여 나타낸 것이다. 독성물질(Cu)의 농도가 0.5, 1.5, 2.5 mg/L로 증가함에 따라 부착상태에 비하여 탈착상태의 질화균이 독성의 영향을 각각 1.29, 1.11, 1.05배 더 크게 받는 것으로 나타났으며 기질에 아질산염이 포함되어 있지 않은 경우는 독성에 대한 영향을 각각 3.01, 1.68, 1.56배 더 크게 받는 것으로 나타났다. 두 경우 모두 비표면적을 늘려서 실험한 경우에 독성의 영향을 더 크게 받는 것으로 나타났으며 *Nitrosomonas*의 경우처럼 *Nitrobacter*의 경우에도 아질산염이 존재할 때 상대적으로 독성의 영향을 적게 받는 것으로 나타났다. 이 역시 두 부류의 질화균이 동시에 작용함에 따라 독성에 대한 영향이 분산되었기 때문이라 판단된다.

3.3. 부유성장 질화균의 분쇄 유무에 따른 영향

본 연구는 농축질화균 연속 배양조로부터 슬러지를 취하여 독성물질의 농도에 따른 영향에 대하여 검토하였는데,

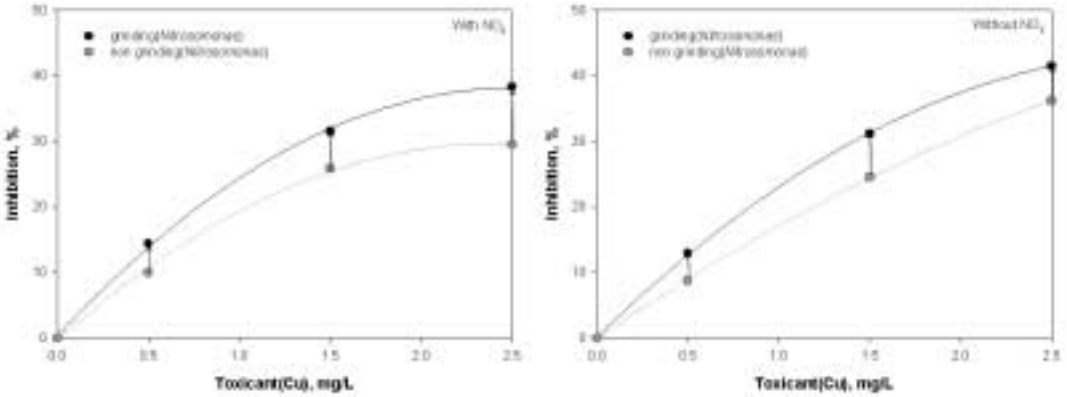

Fig. 8. Relationship between inhibition of ammonia consumption rate and addition of toxicant and nitrite with suspended nitrifying organisms.

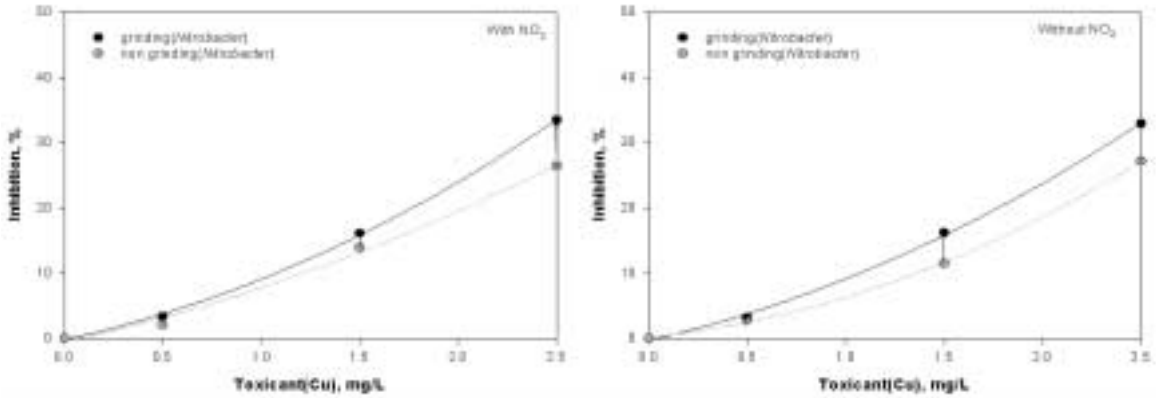

Fig. 9. Relationship between inhibition of nitrate production rate and addition of toxicant and nitrite with attached nitrifying organisms.

이 경우 분쇄기를 이용하여 질화균을 분쇄한 후, 분쇄 전후의 독성물질의 영향을 상호 비교하였다. 분쇄 시간은 본 실험을 위하여 사전에 분쇄시간 결정 실험에서 결정된 30초로 정하였다. 이 경우에도 부착성장 질화균을 이용한 실험에서와 동일한 방법으로 진행하였으며 기질을 주입할 때 질화균 중의 *Nitrobacter*의 영향을 배제하기 위하여 아질산염을 주입하지 않은 상태에서 암모니아만을 주입한 경우와 아질산염과 암모니아를 동시에 주입한 경우에 대하여 비교평가 하였다.

Fig. 8은 기질에 아질산염이 포함된 경우와 포함되지 않은 경우, 부유성장 질화균의 분쇄 전 후에 따른 암모니아 소비율을 나타낸 것이다. 아질산염이 포함된 경우는 독성물질이 0.5, 1.5, 2.5 mg/L로 증가함에 따라 분쇄 후의 질화균이 분쇄전의 질화균에 비하여 각각 1.44, 1.22, 1.30배 더 크게 독성의 피해를 받는 것으로 나타났으며, 기질에 아질산염이 포함되어 있지 않은 경우는 독성물질의 증가에 따라 각각 1.47, 1.27, 1.15배 더 크게 저해를 받은 것으로 나타났다. 그러나 두 경우 모두 큰 차이는 보이지 않았다.

Fig. 9는 아질산염의 존재 유무에 따라 *Nitrobacter*의 저해 정도를 질산염의 생성율로 나타낸 것이다. 기질에 아질산염이 포함된 경우, 독성물질(Cu)의 농도가 0.5, 1.5, 2.5 mg/L로 증가함에 따라 분쇄 후의 질화균이 분쇄전의 질화균에 비하여 각각 1.62, 1.16, 1.27배 크게 독성의 피해를 받았으며 기질에 아질산염이 포함되어 있지 않은 경우는 독성물질의 증가에 따라 각각 1.14, 1.42, 1.21배 더 크게 저해를 받는 것으로 나타났다. *Nitrobacter*의 경우는 아질산염의 존재여부와 관계없이 매우 유사한 양상을 띠고 있는 것으로 나타났으며, 부착성장에 비하여 그 차이는 크지 않은 것으로 나타났다.

이상의 결과에서 보여 지듯이 표면적이 작은 경우가 독성에 대한 피해를 적게 받고 있음을 알 수 있는데, 이것은 Fig. 2와 Fig. 3에서 보는 바와 같이 질화균이 독성물질과 접촉된 상태가 다르기 때문이며, 비표면적이 클수록 독성에 노출된 질화균이 많아 비표면적이 작은 경우보다 독성피해

가 컸던 것으로 사료된다. 따라서 독성물질이 존재하는 폐수처리의 경우에는 비표면적이 작은 경우가 효과적일 것이라 판단된다.

4. 결 론

본 연구는 부착성장 및 부유성장 질화균에 미치는 독성물질의 영향에 관한 연구이며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 부착성장 질화균을 이용하여 부착 상태와 탈착 상태를 비교 실험한 경우에 독성물질에 대한 영향은 기질 중에 아질산염 존재 여부에 관계없이 부착상태가 탈착상태보다 독성물질(Cu)에 대한 피해를 적게 받았다. IC_{50}값을 이용하여 비교한 결과, 두 가지 기질을 사용한 경우에 *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 저해 정도는 각각 1.33배와 1.09 배 적게 받는 것으로 관찰되었으며 저해 정도는 각각 1.33경우는 각각 1.83 배와 1.78 배 적게 받는 것으로 관찰되었다. 이는 메디아에 부착된 상태보다 탈착된 상태가 독성물질과 접촉할 수 있는 기회의 증가에 기인한 것으로 사료되며, 이 같은 원리를 이용하여 산업폐수와 같은 독성물질이 함유된 폐수처리의 경우에 부착성장 미생물을 이용하는 것이 바람직하다.
2. 부유성 질화균을 이용하여 분쇄 전 후의 상태에 따른 영향을 관찰한 결과는 분쇄하기 전의 상태보다 분쇄한 후의 상태에서 독성물질에 대한 피해를 더 크게 받았다. IC_{50}값을 이용하여 비교한 결과, 두 가지 기질을 모두 사용한 경우에 *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 저해는 각각 1.46배와 1.35 배 크게 받았으며, 기질 중에 아질산염을 주입하지 않은 경우는 각각 1.27 배와 1.32 배 크게 받는 것으로 관찰되었다. 이는 슬러지를 분쇄함으로써 플럭의 크기가 작아지고, 독성물질과 접촉할 수 있는 비표면적이 증가했기 때문에 독성물질에 대하여 상대적으로 피해를 더 크게 받았던 것이다. 따라서 독성물질 함유 폐수 처리를 효율적으로 관리하기 위해서는 미생물 농도 등의 운영조건이 같은 경우라도 생물 막의 비표면적을 작게 유지하는 것이 효과적인 방안이다.

KSEE

참고문헌

1. Dangcong et al., P. Dangcong, N. Bernet, J. Delgenes and R. Moletta, "Effects of oxygen supply methods on the performance of a sequencing batch reactor for high ammonium nitrification," *Water Environ. Res*. **72**, 195~200(2000).
2. Hu et al., Z. Hu, K. Chandran, D. Grasso and B. F. Smets, "Effect of nickel and cadmium speciation on nitrification inhibition," *Environ. Sci. Technol*. **36**, 3074~3078(2002).
3. Bitton, G., "Bacterial and biochemical tests for assessing chemical toxicity in the aquatic environment," A review, *Crit. Rev. Environ. Control*, **13**, 51~67(1983).
4. Beckman, W. J., "Design and Operation of Combined Carbon Oxidation Nitrification Activated Sludge Plant", *J. Wat. Pollut. Control. Fed*. **44**, 1916(1972).
5. Skinner, F. A. and Walker, N., "Growth of Nitrosomonas europaea in Bath and Continuos Culture," *Arch. Microbiol*., **38**, 339(1961).
6. Herbert H. P. Fang, Li-Chong Xu, Kwong-Yu Chan, "Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion," *Water Res.*, **36**(19), 4709~4716(2002).
7. Bitton, G., Wastewater Microbiology, *John Wiley & Sons*, INC., New York, NY, 89~198,(1994).
8. Painter, H. A. and Loveless, J. E. "Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated-sludge precess", *Water Res.*, **17**(3), 237~248 (1983).
9. 원성연, "질산화 반응에 미치는 환경인자의 영향" 충북대학교, 박사학위 논문(1999).
10. U. S. Environmental protection Agency(EPA), Manual nitrogen control, EPA/625/R-93/010, office of water, washington, D.C., (1995).
11. Prakasam,T. B. S. and Loehr, R. C., "Microbial Nitrification and denitrification in concentrated wastes", *Water Res.*, **6**, 859~869(1972).
12. APHA-AWWA-WPC.F., Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (21st ed.), Am. Public Health Ass, Washington DC, U.S.A. (2005).
13. Yakup K. "The impact of toxicity of metals on the activity of ureolytic mixed culture during the precipitation of calcium", *J. Hazard. Mat.*, **163**(2-3), 1063-1067(2009).
14. 임정훈, 우혜진, 전병희, 고주형, 이상일, 김창원, "MBBR에서 부하에 따른 생물막내 미생물종, 개체수 및 산소농도 분포", 대한환경공학회, **24**(11), 2009~2018(2002).

15. Skinner F. A. and Walker N., "Growth of Nitrosomonas europaea in batch and continuous culture", *Arch. Microbiol*, **38**, 339~349(1961).
16. Loveless J. E. and Painter H. A., "The influence of metal ion concentration and pH value on the growth of a Nitrosomonas strain isolated from activated sludge". *J.Gen. Microbiol*., **52**, 1~14(1968).
17. Koopman B. and Bitton G., Toxicity screening in wastewater systems. In: Toxicity testing Using Microorganisms Dutka B.J.and Bitton G.(eds.), CRC Press, Boca Raton, Fla, USA. 101~132(1986).