

상향류 활성탄 생물막 공정을 이용한 정체 수역 수질 개선 및 공정 내 미생물 군집 해석

Water Quality Improvement of Stagnant Water using an Upflow Activated Carbon Biofilm Process and Microbial Community Analysis

오유미 · 이재호* · 박정진* · 최기충* · 박태주** · 이태호 †

Yu-Mi Oh · Jae-Ho Lee* · Jeung-Jin Park* · Gi-Choong Choi* · Tae-joo Park** · Tae-Ho Lee †

부산대학교 사회환경시스템공학부 · *(주)수 엔지니어링 · **한국환경정책평가연구원

School of Civil and Environmental Engineering, Pusan National University · *SU engineering Co. Ltd

**Korea Environmental Institute

(2009년 10월 22일 접수, 2009년 12월 14일 채택)

ABSTRACT : The capacity of natural purification was limited by the interruption of natural flow and the problems such as eutrophication were occurred by nutritive salts accumulation in stagnant stream. Moreover, the inflow of non-point sources causes non-degradable materials to increase in stagnant stream. In this study, an upflow biological activated carbon (BAC) biofilm process comprised of anoxic, aerobic 1, and aerobic 2 reactors were introduced for treatment of stagnant stream and SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, and TP were monitored in the upflow BAC biofilm reactors with continuous cycling. In order to simulate stagnant stream, the lake water of amusement park and golf course were stored as influent in a tank of 2 m³ and hydraulic retention time (HRT) was changed into 6, 4, and 2 hours. At HRT 4hr and the lake water of amusement park as influent, the removal efficiencies of SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, and TP showed the best water quality improvement and were 69.8, 83.0, 91.3, 74.1, 74.7, and 88.9%, respectively. At HRT 4hr and the lake water of golf course as influent, the removal efficiencies of SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN and TP were 78.5, 78.0, 80.2, 74.9, 55.6 and 97.5%, respectively. As the results of polymerase chain reaction - denaturing gel gradient electrophoresis (PCR-DGGE), microbial community was different depending on influent type. Fluorescence in situ hybridization (FISH) showed that nitrifying bacteria was dominant at HRT 4 hr. The biomass amount and microbial activities by INT-DHA test were not decrease even at lower HRT condition. In this study, the upflow BAC biofilm process would be considered to the water quality improvement of stagnant stream.

Key words : Biofilm, Fluorescence in situ hybridization(FISH), Microbial community, PCR-DGGE, Stagnant stream

요약 : 정체수역에서는 자연적 흐름의 차단으로 인해 자정능력이 떨어지며, 영양염류의 축적으로 인해 부영양화와 같은 문제점이 발생한다. 또한 비점오염물질의 유입은 정체수역 내 난분해성 물질을 증가시킨다. 본 연구에서는 정체수역의 수질개선을 위해 무산소조, 호기1조, 호기2조로 구성된 장치형 상향류 활성탄 생물막 반응기를 도입하여 정체수역의 연속적 순환에 따른 오염물질 농도의 변화를 모니터링 하였다. 정체수역을 모사하기 위하여 2 m³의 저장탱크에 유원지의 호소수를 저장하였으며, 수질개선을 위한 최적 유입 유량을 산출하기 위하여 HRT가 6 hr, 4 hr, 2 hr 가 되도록 호소수의 유입 유량을 변화시켰다. 이 가운데 HRT 4 hr에서 SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, TP의 제거 효율이 각각 69.8, 83.0, 91.3, 74.1, 74.7, 88.9%로 가장 좋은 수질 개선 효과를 얻을 수 있었다. 이에 HRT를 4 hr로 고정하고 골프장 연못수를 운전했을 때 SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, TP의 제거 효율이 각각 78.5, 78.0, 80.2, 74.9, 55.6, 97.5% 달성되었다. 각 조건에서의 미생물 군집 변화를 PCR-DGGE를 사용하여 분석 결과, 유입수를 골프장 연못수로 교체함에 따라 미생물 군집에 변화가 나타났다. 또한 FISH에 의해 유입 유량 변화에 따른 질산화 미생물량의 변화를 관찰한 결과, HRT 4 hr의 조건에서 질산화 미생물이 가장 우점화됨을 알 수 있었다. 미생물량 및 INT-DHA를 이용한 미생물 활성도 실험 결과, HRT를 낮게 유지하였을 때에도 감소되지 않았다. 따라서 상향류 활성탄 생물막 공정을 정체 수역의 효과적인 수질 개선에 충분히 적용할 수 있을 것으로 기대한다.

주제어 : 미생물 군집, 정체 수역, 활성탄 생물막 공정, FISH, PCR-DGGE

1. 서론

삶의 질이 향상됨에 따라 아름다운 경관과 좋은 수질을 갖

춘 수변 공간 확보의 중요성이 커지고 있다. 특히 공원 호소와 같은 정체수역은 주민들의 생활에서 가장 흔히 접할 수 있는 자연 공간이므로 반드시 좋은 수질을 확보해야 한다. 그러

† Corresponding author : E-mail : leeth55@pusan.ac.kr Tel : 051-510-2465 Fax : 051-514-9574

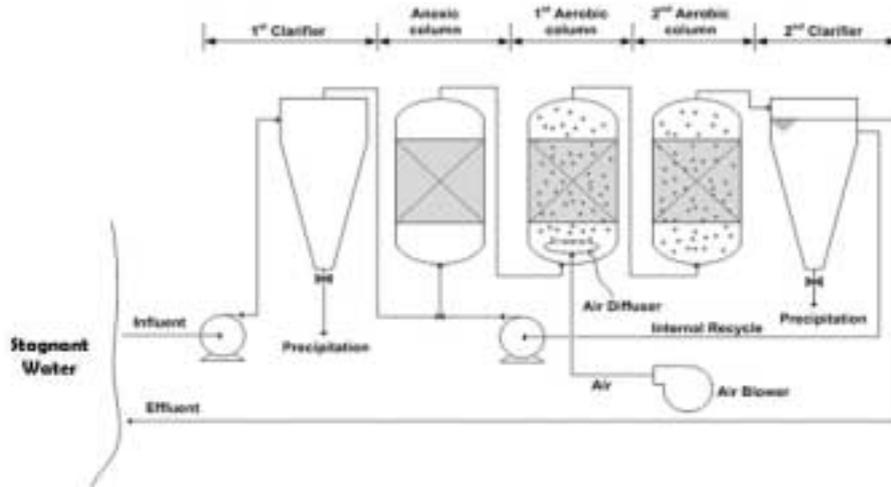


Fig. 1. Schematic diagram of an upflow BAC biofilm process.

나 정체수역에서는 물의 자연적인 흐름이 차단됨으로써 자정 능력이 감소되고 부영양화로 인한 조류의 다량 번식으로 수생 생태계 파괴와 같은 환경 문제가 발생하기 때문에 이를 해결하기 위한 연구가 필요하다.

정체수역 중 특히 호소수의 수질 특성 파악 및 수질 개선을 위한 연구가 주로 수행되어왔다.^{1,2)} 기존의 정체수역의 수질 개선은 호소수 내 산소 공급, 수생 식물 이용 인공 식물섬 설치 및 수질정화용 약품 등 투입을 적용하여 수행되었다. 그러나 Lawson 등³⁾은 정체수역의 산소 공급에 의한 수질개선은 균형적인 산소 공급이 이뤄지지 않아 수질개선 효과가 크지 않다고 하였다. 또한 수생 식물 이용 인공 식물섬에 의한 수질개선⁴⁾ 및 수질정화용 약품을 이용하는 방법은 시설 투자비용에 비해 수질 정화 효율이 낮거나 기타 2차 오염을 발생시키는 등의 단점을 가지고 있다.

생물활성탄 공정은 활성탄을 이용하여 물리적 흡착 및 부착 미생물에 의해 오염물질을 제거하는 기술이다. 주로 고도 정수처리를 위한 공정으로 사용되어 왔으며, 용존되어 있는 유기물질, 질소, 인, 암모니아 등을 생물학적으로 처리함으로써 미량유기물질 저감에 효율적인 공정으로 알려져 있다. 이러한 생물활성탄 공정을 정체 수역 수질 정화에 도입한다면 낮은 농도의 유기물질과 영양염류 제거에 효과가 있을 것이다. 한편, PCR (polymerase chain reaction)에 기반한 DGGE (denaturing gradient gel electrophoreses) 방법을 이용하여 활성탄 표면에 형성된 생물막 내 미생물 군집을 해석할 수 있다. PCR은 특정 DNA 부위를 증폭시키는 방법이며, DGGE는 DNA 변성제 농도에 구배가 있는 gel 상에서 전기영동함으로써 DNA의 염기서열에 따른 이동속도의 차이를 이용하여 미생물의 다양성을 해석하는 분자생물학적 방법

이다.^{5,6)} 또한 FISH (Fluorescence in situ hybridization) 방법을 이용하여 생물막 내 형성된 미생물들의 분포 비율을 관찰할 수 있다. FISH는 세포내 DNA 또는 RNA의 특정 target strand에 상보적인 DNA 또는 RNA의 형광 처리된 단일가닥 조각 (oligonucleotide probe)을 붙여 목적 미생물을 검출하는 방법이다.⁷⁾ 본 공정의 최적 설계 인자를 찾기 위해 운전 조건 변화시 오염물질 제거 효율이 담체 부착 미생물량과 미생물 활성도의 변화에 영향을 받을 것이라고 가정하여 운전 조건별로 담체 부착 미생물량과 미생물 활성도를 측정하였다. INT(2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazolium chloride)-DHA (dehydrogenase activity)는 유기물이 생물학적으로 분해될 때 전자가 손실되거나 수소 이온이 제거되는 원리를 이용하여 세포내 탈수소효소(dehydrogenase)를 측정하여 미생물 활성도를 결정하는 방법이다.⁸⁾ 본 연구에서는 정체수역의 수질개선을 위해 활성탄을 충전하여 생물막을 성장시킨 상향류 활성탄 생물막 반응을 개발하고 유입 유량의 변화, 즉 HRT (hydraulic retention time) 변화에 따른 수질 개선 효과를 평가하였으며 PCR-DGGE와 FISH에 의한 미생물 군집 분석 결과와 수질 개선 효과의 상관관계를 해석하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 상향류 활성탄 생물막 공정 및 운전

본 연구에서 사용한 실험실 규모의 정체수역 수질 개선을 위한 상향류 활성탄 생물막 공정은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 1차 침전조 (5 L), 무산소조 (4 L), 호기1조(4 L), 호기2조

Table 1. Operating conditions of the biofilm reactor

stagnant waters	Condition	Flow rate(m ³ /day)	HRT(hr)
lake water	1Q	0.048	6
	1.5Q	0.072	4
	3Q	0.144	2
pond water	1.5Q	0.072	4

*() is mean value.

Table 2. Characteristics of the stagnant waters used in this study

Parameters	lake water			pond water
	1Q	1.5Q	3Q	1.5Q
pH	7.5	7.4	7.4	8.7
BOD ₅ (mg/L)	16.8	12.5	8.0	8.2
COD _{Cr} (mg/L)	49.1	40.5	29.3	28.6
COD _{Mn} (mg/L)	20.5	25.4	12.4	13.7
SS (mg/L)	24.8	28.2	26.7	30.8
TN (mg/L)	9.5	5.8	3.4	1.4
NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	1.3	1.2	1.6	0.1
NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	1.2	1.2	1.6	0.0
TP (mg/L)	0.2	0.3	0.3	1.6
Alkalinity (mg CaCO ₃ /L)	54.0	57.0	57.0	79.0

(4 L), 최종 2차 침전조 (4.5 L)로 구성되었다. 무산소 및 호기1, 호기2조에는 각각 20%(v/v)로 활성탄 담체를 충전하였고, 생물막의 형성을 위해 하수처리장 활성슬러지를 식중하여 20일간 순환하였다.

정체 수역 원수는 경남 Y시의 T 유원지 내에 설치된 연못수에서 공급되었으며 추가적으로 경남의 C 골프장 연못수의 수질 개선 효과를 검증하였다. 각 정체 수역의 원수는 용량 2 m³의 저장조에 저장하였으며, 공정에서 발생하는 처리수를 저장조에 재주입하는 순환형 장치로 구성하였다. 호기1 및 호기2조에는 용액상 DO가 5~8 mg/L 으로 유지되도록 산기관을 통하여 공기를 주입하였다.

상향류 활성탄 생물막 공정의 운전 조건을 Table 1에 나타내었다. 생물막 공정의 적정 처리 유량을 도출하기 위하여 유

입수의 유량을 변화시켜 체류 시간을 각각 6, 4, 2 hr이 되도록 운전하였다. 각 유입 유량 조건별로 새로운 정체 수역 원수를 공급하였으며 각 조건에서의 유입수의 특성은 Table 2에 나타내었다. 공정 운전이 겨울철에 이루어졌기 때문에 운전온도는 평균 10±2℃ 범위에서 유지되었다.

2.2. 수질 분석 방법

상향류 활성탄 생물막 공정의 수질 개선 효율을 평가하기 위하여 매일 유입수와 유출수를 채취하여 대표적인 수질 항목을 분석하였다. NH₄⁺-N은 AA3 (Bran+Luebble-Auto Analyzer3, SPX Co., Germany)를 이용하여 분석하였으며, BOD₅, SS, COD_{Cr}, COD_{Mn}, TN, TP는 수질공정오염시험방법을 토대로 측정하였다. NO₂⁻-N, NO₃⁻-N, PO₄³⁻-P는 Ion Chromatography Analyzer (Dionex ICS-1000, USA)를 이용하여 분석하였다. pH는 pH meter (Orion, model 520A, USA), 온도 및 DO는 YSI DO meter (Model58, USA)를 이용하여 측정하였다.

2.3. DNA 추출 및 PCR 증폭

각 반응기에서 활성탄 담체를 채취하여 탈리 용액 100 mL에 넣고, 초음파 기기를 사용하여 생물막을 탈리시켰다. 탈리된 용액 1 mL을 원심 분리하여 상등액을 제거한 뒤, biomass 0.1 g을 멸균수 1 mL에 재용해시켜 PowerSoil™ DNA isolation kit (MoBio Ltd. Co., USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 0.5 mL 튜브에 10 m × Taq buffer 2.5 μL, 10 mM dNTP 10 μL, 각각의 primer 0.25 μL(10 pmol), DNA template 2 μL, Taq DNA polymerase (Solgent Co., Korea) 0.125 μL를 첨가하고 나머지는 멸균수를 첨가하여 총 25 μL가 되도록 PCR stock solution을 제조하였다.

본 연구에서 사용된 primer는 Table 3과 같다. 16S

Table 3. PCR primers and probes used in this study

	division	target microbial group	sequence(5' to 3')	FA(%)
primers	EUB27F	Eubacteria	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	-
	EUB1492R		ACGGGCGGTGTGTACAAG	-
	EUB518R		ATTACCGCGGCTGCTGG	-
	EUB340F- "GC Clamp		GC Clamp- CCTACGGGAGGCAGCAG	- -
probes	EUB338(II)	Eubacteria	GCAGCCACCCGTAGGTGGT	-
	Nso190	Ammonia-oxidizing β-proteobacteria	CGATCCCCTGCTTTTCTCC	20
	Ntspa662	Nitrosospira spp.	GGAATCCGCGCTCCTCT	20
	Nit3	Nitrobacter spp.	CCTGTGCTCCATGCTCCG	40

"GC Clamp : 5'- CGC CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GC - 3'

Table 4. PCR conditions used in this study

Primers	PCR conditions
EUB 27F/EUB 1492R	9 min at 95°C, followed by 35 cycles of 1 min at 95°C 1 min at 53°C, 2 min at 72°C followed by 10 min final extension at 72°C
EUB 340F or GC-EUB 340F/EUB 518R	9 min at 95°C, followed by 30 cycles of 1 min at 95°C 1 min at 53°C, 2 min at 72°C followed by 10 min final extension at 72°C

rRNA (ribosomal RNA gene)를 증폭하기 위해 우선 EUB 27F와 EUB 1492R primer를 사용하여 16S rDNA를 증폭하고, 증폭된 산물을 template로 사용하고 EUB 340F와 EUB 518R을 primer로 사용하여 16S rDNA의 V3 부분을 증폭하였다. DGGE 분석을 위한 PCR 증폭의 각 단계별 조건들은 Table 4에서 나타내었다. 증폭된 PCR 산물은 purification kit (Bioneer Ltd. Co., Korea)를 사용하여 정제하였다.

2.4. DGGE 및 주성분 분석

PCR 산물 30 μ L에 dye solution 10 μ L를 혼합하여 DGGE gel에 loading한 뒤 60°C, 200 V에서 9시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기 영동한 gel은 ethidium bromide으로 30분간 염색시킨 후, UV transilluminator (Uvitec gel documentation system, UK)를 사용하여 band profile을 확인하였다. DGGE profile 상의 각 band의 위치와 강도는 Fingerprinting II Informatix Software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였으며, SPSS v14.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) 을 이용하여 주성분 분석을 수행하였다.

2.5. FISH

각 반응기에서 활성탄 담체를 채취하여 탈리 용액 100 mL에 넣고, 초음파 기기를 가하여 생물막을 탈리시켰다. 탈리된 용액 1 mL를 1×PBS로 2회 세척하고 원심분리한 후, 4% paraformaldehyde를 주입하여 하루 밤 동안 냉장보관하며 미생물을 고정시켰다. 고정시킨 샘플은 원심분리하여 상등액을 제거하고 다시 1×PBS로 3회 세척 후, 1×PBS와 50% EtOH 7:3 (v/v) 비율로 혼합된 용액을 넣어 4°C에서 12시간 보관하여 EPS를 제거하였다. EPS 제거된 샘플을 원심 분리하여 상등액 제거 후 1×PBS를 넣어 -20°C에 보관하였다.

샘플은 예폭시 수지와 젤라틴 (0.1% gelatin과 0.01% chromium potassium sulfate)용액으로 코팅시킨 슬라이드 위(8-well marienfeld, Germany)에 4 μ L를 떨어뜨리고 자연건조하였다. 건조된 슬라이드는 에탄올 (50, 80과 90%

ethanol)에 각각 2분씩 담귀 2회에 걸쳐 샘플의 탈수를 실시하였고, 이 후 자연건조하였다.

본 연구에 사용된 oligonucleotide probe는 EUB 338(II), Nso 190, Ntspa 662, Nit 3이며 사용된 oligonucleotide probe의 염기서열은 Table 3에 나타내었다. Probe의 최종농도는 5 ng/ μ L였으며, probe에 따라 최적의 hybridization 반응이 이루어질 수 있도록 formamide의 농도를 달리하였다.

Hybridization 반응은 완충 용액 [0.9 M NaCl, 20 mM Tris HCl(pH 7.2), 0.01% sodium dodecyl sulfate(SDS)]를 사용하여 46 °C에서 3시간 동안 실시하였다. 이후 48°C의 washing solution [20 mM Tris HCl (pH 7.2), 0.01% SDS]을 사용하여 20분간 세척하였으며, 추가적으로 diethyl-pyrocabonate (DEPC)로 세척한 뒤 자연건조 하였다. 모든 절차와 방법은 Manz 등⁹⁾과 Amann¹⁰⁾의 방법에 준하여 수행하였다.

FISH 반응을 마친 시료는 neofluor 렌즈와 axiocam이 장착된 형광 현미경(Axioskop 2puls, Zeiss, Germany)을 사용하여 관찰하였다. 촬영된 형광 이미지의 미생물 분포 면적 분석은 visual digital image analyzer (Zeiss, Germany)을 사용하여 계산하였다.

2.6. 부착 미생물량 측정

각 반응조에서 활성탄 담체를 꺼내 50 mL의 탈리 용액에 넣고, vortex로 강한 진동을 가하여 담체의 생물막을 탈리시켰다. 용액에 탈리된 생물막을 GF/C로 여과하여 110°C에서 2시간 건조 후 방냉하였다. 이 후 건조 전과 후의 무게 차를 비교하여 각 반응기내 부착 미생물량을 식 (1)과 같이 계산하였다.

$$\text{Attached biomass(mg/L)} = \frac{\text{생물막부착미생물량(mg)}}{\text{반응기총면적(L)}} \quad (1)$$

2.7. INT-DHA에 의한 미생물 활성도 측정

각 반응조에서 활성탄 담체를 꺼내 50 mL의 탈리 용액에 넣고, vortex로 강한 진동을 가하여 생물막을 탈리시켜 시료

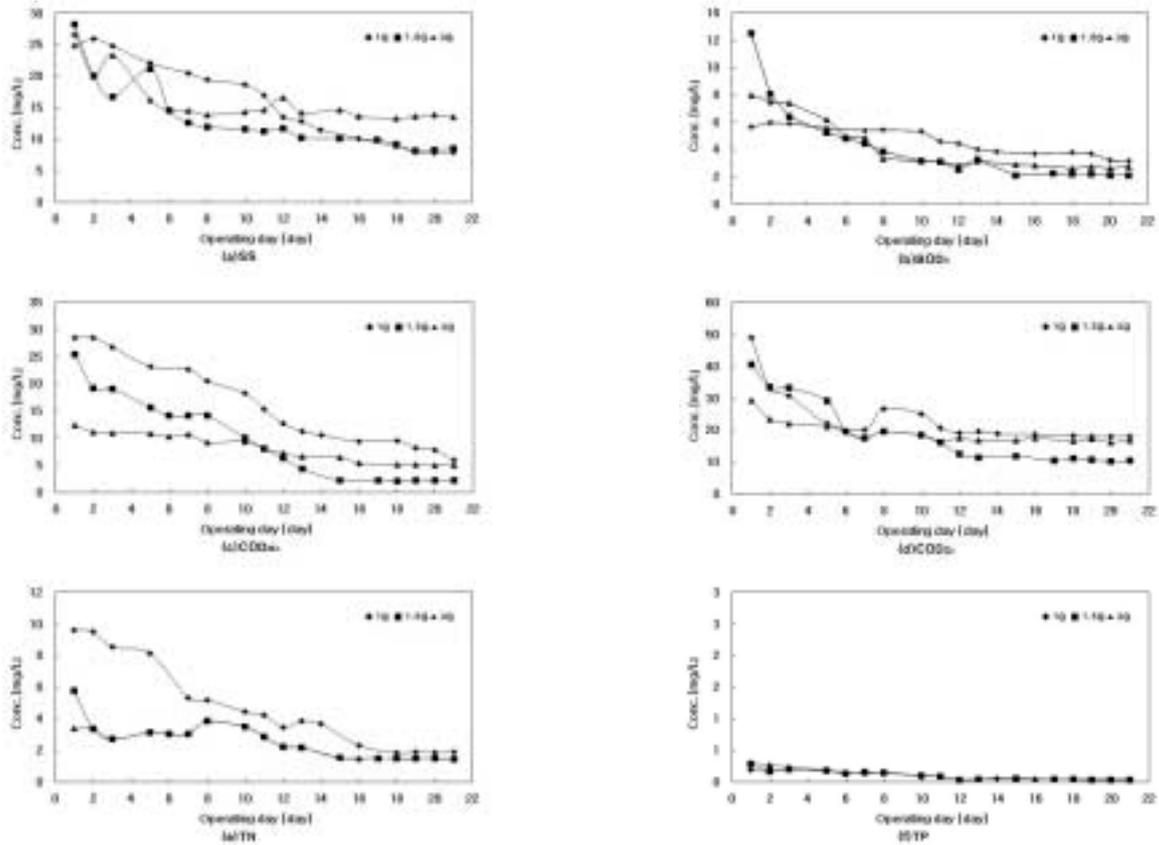


Fig. 2. Concentrations of water quality parameters when lake water was treated by the biofilm reactor; (a)SS, (b)BOD₅, (c)COD_{Mn}, (d)COD_{Cr}, (e)TN, (f)TP.

를 준비하였다. 탈리된 생물막 시료를 균일하게 혼합 후 15 mL의 cap tube에 시료 5 mL를 취하였다.

0.2% INT(2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazolium chloride) 1 mL를 가하여 혼합한 다음, 20°C 암소에서 20분간 배양시켰다.

배양 후 37% formaldehyde 용액을 1 mL 첨가하여 시료를 고정시킨 다음, 2500 rpm에서 10분간 원심분리를 하고 상등수를 제거하였다.

남아있는 INTF(INT-Formazon)는 물에 불용성이므로 2+3 Aceton/Demethyl Sulfuroxid(DMSO) 유기 용매를 5 mL 가하여 혼합한 다음, 20°C 암소에서 20분간 반응시켜 INTF를 추출하였다. 이를 다시 원심분리기에서 10분간 2500 rpm으로 원심 분리한 다음, 상등수만 취하여 흡광 광도계를 사용하여 465 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이는 Koopman 등¹⁰⁾의 방법을 수정한 것으로 식 (2)를 이용하여 탈수소 효소 활성도(dehydrogenase activity, DHA)를 구하였다.

$$DHA \text{ (mg O}_2\text{/g VSS/day)} = \frac{905 \times D_{465} \times V_1}{C \times V_2 \times t \times F} \quad (2)$$

여기서, D_{465} = 465 nm에서 시료의 흡광도, V_1 = 용매의 부피 (mL), t = INT와 반응한 시간 (min), C = VSS의 농도 (g VSS/L), V_2 = 추출에 사용된 시료의 부피 (mL), F = INT와 formaldehyde 용액에 의한 희석 보정 계수(0.714), 905 = DHA 단위를 mg O₂/g VSS/day로 나타내기 위한 환산인자를 의미한다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유입 유량 변화에 따른 호소수 수질 개선

상향류 활성탄 생물막 공정에서 유원지 호소수의 유입 유량에 따른 SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, TP 등의 수질 변화를 Fig. 2에 나타내었다.

21일 후의 최종 SS 농도는 1Q, 1.5Q, 3Q 조건에서 각각 8.0, 8.5, 13.6 mg/L이었으며 SS 제거 효율은 각각 67.7, 69.8, 49.2%로 나타났다. 최종 BOD₅ 농도는 각각 3.2, 2.1, 2.7 mg/L이었으며 43.6, 83.0, 66.1%의 제거 효율을 나타내었다. 최종 COD_{Mn} 농도는 각각 5.9, 2.2, 5.0 mg/L 이었고 제거 효율은 각 조건에서 79.2, 91.3, 59.8%

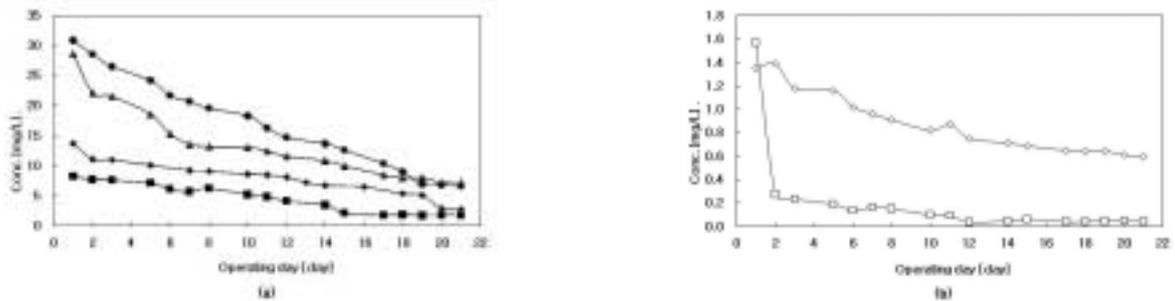


Fig. 3. Concentrations of water quality parameters when golf pond water was treated by biofilm reactor: (a)●: SS, ◆: CODMn, ■: BOD5, ▲: CODCr and (b)◇: TN, □: TP.

이었다. CODCr의 경우 유출 농도는 각각 17.9, 10.5, 16.8 mg/L 이었으며, 각각 63.5, 74.1, 42.5%의 제거 효율을 달성하였다.

영양염류의 경우, 21일 후의 최종 TN 농도는 1Q, 1.5Q, 3Q 조건에서 각각 1.9, 1.5, 1.5 mg/L였고 제거 효율은 각각 80.2, 74.7, 56.8%로 나타났다. 최종 TP 농도는 각각 0.03, 0.03, 0.03 mg/L이었으며 제거 효율은 각각 84.1, 88.9, 83.8%이었다.

따라서, TN을 제외한 수질 항목의 개선 효과는 HRT 4 hr인 1.5Q 조건에서 가장 높게 나타났다. TN 제거 효율은 HRT 6 hr인 1Q 조건에서 가장 높게 나타났으나, 모든 조건에서 2.0 mg/L 이하의 최종 농도를 나타내었기 때문에 처리수의 질소 농도가 정체 수역에 미치는 영향은 미미할 것으로 사료된다.

이 등¹²⁾은 입상 활성탄 여재가 충전된 생물막 반응조에서 HRT의 변화가 부영양화 호소수의 처리에 미치는 영향이 크며, HRT 0.5~2 hr에서 COD, SS, TN, TP의 제거 효율은 각각 37~80%, 62~70%, 40~68%, 40~59%로 나타났다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 HRT의 변화에 따른

처리 효율의 변화를 관찰할 수 있었으며, 활성탄을 충전시킨 생물막 반응기의 오염물질 제거 효율 측면에서 HRT 4 hr인 1.5Q 조건으로 운전하는 것이 가장 타당하다고 판단된다.

3.2. 골프장 연못수의 수질 개선

정체 호소수의 수질 개선 효율이 가장 높았던 HRT 4 hr (1.5Q)의 조건에서 다른 정체수인 C 골프장 연못수의 수질 개선을 시도하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 SS, BOD₅, CODMn, CODCr, TN, TP 등 수질 항목의 최종 농도는 각각 6.6, 1.8, 2.7, 7.2, 0.6, 0.04 mg/L이었으며, 제거 효율은 각각 78.5, 78.0, 80.2, 74.9, 55.6, 97.5%로 나타났다. 이는 유원지 내의 유입수를 사용한 1.5Q 조건의 제거 효율과 비슷하였으며, 환경정책기본법의 하천수질기준을 만족하는 수질 개선 효과를 얻을 수 있었다. 결론적으로, HRT 4 hr의 조건에서 오염물질 제거효율이 최대가 되었고 정체수의 성상을 변화시켰을 때에도 최적의 제거 효율이 유지됨을 알 수 있었다.

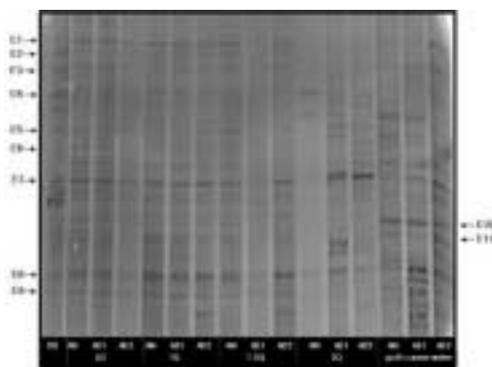


Fig. 4. DGGE profiles of 16S rRNA gene fragments at each conditions; AS(inoculated activated sludge), lake water 1Q, 1.5Q, 3Q and golf pond water; AN: anoxic tank, AE1: aerobic tank 1, AE2: aerobic tank 2.

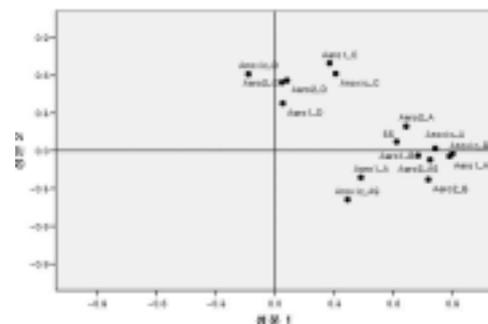


Fig. 5. PCA results of the DGGE profile according to the individual reactors on the different conditions; Anoxic: microbial community in anoxic tank, Aero1: microbial community in aerobic tank 1, Aero2: microbial community in aerobic tank 2, A: lake water 1Q, B: lake water 1.5Q, C: lake water 3Q, D: pond water 1.5Q.

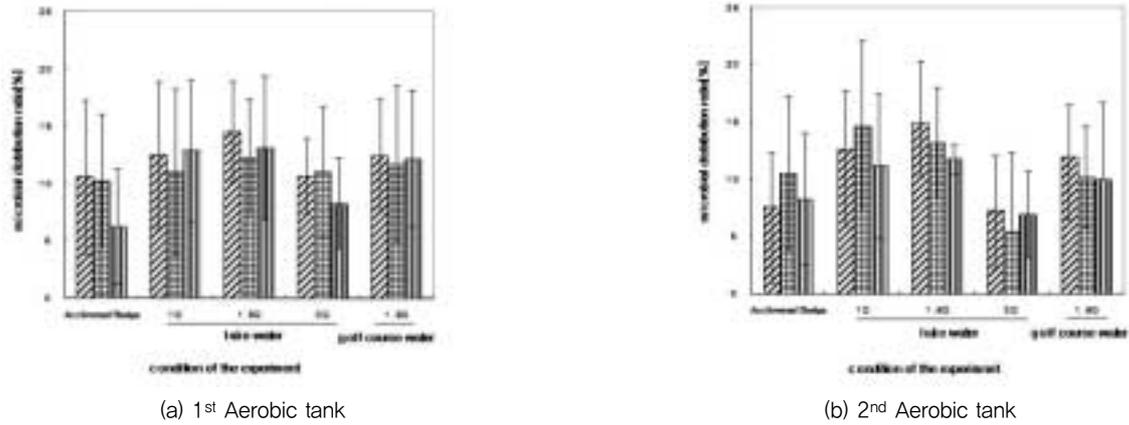


Fig. 6. Variation of microbial distribution ratio in each condition at 1st Aerobic tank(a) and 2nd Aerobic tank(b); AOB(▨), Nitrobacter spp.(■), Nitrospira genus(▤).

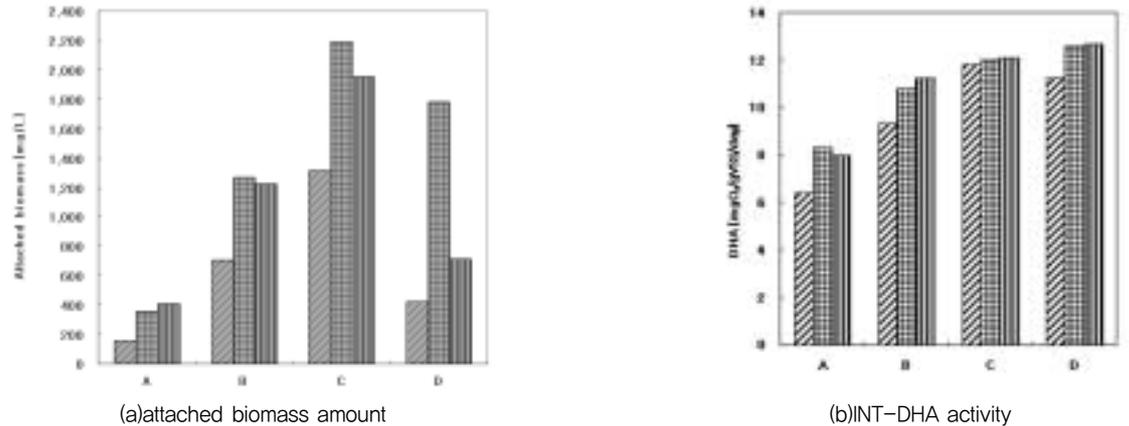


Fig. 7. Attached biomass amount(a) and INT-DHA activity(b) in each condition :Anoxic(▨), 1st Aerobic(▤), 2nd Aerobic(■) column reactor; A: 1Q, B: 1.5Q, C: 3Q(lake water), D: 1.5Q(pond water).

3.3. DGGE에 의한 미생물 군집 해석

각 운전 조건에서 무산소조, 호기1조, 호기2조 내의 미생물 군집 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 초기 식중슬러지에서 나타난 E12 band는 미생물이 본 수질개선 장치에 순응되면서 사라지는 것을 관찰할 수 있다. 호소수의 1Q, 1.5Q, 3Q 조건에서의 band 변화를 보면, 3Q 조건에서 E1 band가 사라지고, E13 band가 나타나는 등 미생물 군집의 변화를 확인할 수 있다. 또한, 골프장 연못수의 경우에는 호소수 처리 조건과 비교했을 때, band 분포에서 큰 변화가 관찰되었다.

Fig. 4의 DGGE profile에 대한 주성분 분석을 수행한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 골프장 연못수를 공급한 무산소조, 호기1조, 호기2조의 미생물 군집이 호소수를 공급한 조건에서의 미생물 군집과 상이함을 확인할 수 있었다. 이는 상향류 활성탄 생물막 반응기에 공급하는 정체 수역 원수에

따라 서로 다른 미생물이 수질 정화에 관여함을 의미한다. 호소수의 3Q (HRT 2 hr) 조건에서의 무산소조, 호기1조, 호기2조의 미생물 군집은 다른 유입 유량 조건의 미생물 군집과 상이한 것을 확인할 수 있었다. 이는 유입 유량의 과다한 증가 즉, 유입 부하의 과다한 증가로 인하여 활성탄에서 부착된 생물막 내 미생물 군집에 변화가 발생하였기 때문인 것으로 판단된다.

3.4. FISH에 의한 미생물 군집 해석

각 조건에서 생물막에 존재하는 질산화 미생물의 분포 조사를 위하여 수행한 FISH 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 각 반응기에 식중원으로 사용한 호기성 슬러지 내 미생물의 분율을 분석하여 각 운전 조건별 질산화 미생물 분율과 비교하였다.

질산화 미생물의 분율은 HRT 2 hr인 3Q 조건을 제외한

모든 조건에서 식중 슬러지에 비해 증가하는 경향을 보였다. 호기 1조에서 식중 슬러지, 1Q, 1.5Q, 3Q, 골프장 연못수 1.5Q 조건에서의 AOB는 각각 10.6, 12.5, 14.6, 10.6, 12.5%이었고 *Nitrobacter spp.*는 각각 10.3, 11.0, 12.3, 11.0, 11.7%이었으며, *Nitrospira genus*는 각각 6.3, 12.9, 13.1, 8.3, 12.2%이었다. 이를 통해 호기 1조에서의 질산화 미생물의 분율은 HRT 4 hr인 1.5Q 조건에서 최대, HRT 2 hr인 3Q 조건에서 최저를 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 호기 2조에서의 AOB는 각각 7.6, 12.6, 14.9, 7.4, 11.9%이었고, *Nitrobacter spp.*는 각각 10.6, 14.7, 13.2, 5.4, 10.2%이었으며, *Nitrospira genus*는 각각 8.3, 11.2, 11.8, 6.9, 10.0%였다. 질산화 미생물은 식중 슬러지와 3Q 조건을 제외한 나머지 조건에서 비슷하게 나타났으나 HRT 2 hr인 3Q 조건에서 현저하게 감소하여 식중 슬러지 이하의 분율을 나타내었다.

따라서, HRT 6 hr인 1Q 조건과 HRT 4 hr인 1.5Q 조건, 그리고 연못수 1.5Q 조건에서의 질산화 미생물은 식중 슬러지보다 증가하는 경향을 보였다. 그러나, HRT 2 hr인 3Q 조건에서 질산화 미생물의 분율은 감소하였으며, 이로 인해 질산화 효율 및 TN 제거효율이 감소한 것으로 판단된다. 그러나 유입 원수를 호소수에서 골프장 연못수로 변경하고 1.5Q(HRT 4 hr)로 운전하였을 경우에는 AOB, *Nitrobacter spp.*, *Nitrospira genus*의 분율이 호소수의 1.5Q 조건에서 얻어진 값 가까이 회복됨을 확인할 수 있었다.

3.5. 유입 유량 변화에 따른 미생물량 및 미생물 활성도

Fig. 7a는 조건별 부착 미생물량의 변화를 나타낸다. 장치 운전 초기에 순응된 슬러지의 미생물량은 무산소조, 호기1조, 호기2조에서 각각 153, 360, 410 mg/L였지만 운전 일수가 증가함에 따라 점차 증가하는 양상을 띄었으며, 유량 3Q(HRT 2 hr)인 C 조건에서 각각 1314, 2194, 1956 mg MLSS/L로 부착미생물이 가장 많이 증식되었음을 알 수 있다. 이로써 유입 유량 즉, HRT 변화와 부착 미생물량의 상관 관계는 적은 것으로 사료된다. Imat 등¹³⁾은 활성화된 부착미생물이 주로 질산화 효율과 관련한다고 발표하 바 있으나, 본 연구에서는 부착 미생물 중 오염 물질 제거에 일조할 수 있는 유기물 제거 및 질산화 미생물 뿐만 아니라 생물분해능이 없는 다양한 미생물들이 존재하는 것으로 사료된다. Park 등¹⁴⁾은 세라믹 담체를 사용하였을 경우, 호기조에서의 부착미생물량은 약 250 mg/L로 유지된다고 보고한 바 있으나, 활성화된 담체를 사용한 본 연구에서

의 최적 조건인 1.5Q 조건에서 무산소, 호기1조, 호기2조 각각 704, 1272, 1225 mg MLSS/L로 선행 연구보다 훨씬 높은 부착 미생물량을 도출할 수 있었다. 즉, 부착 미생물이 증식하기에는 세라믹 담체보다 활성화된 담체가 우수한 것으로 판단된다.

Fig. 7b는 각 조건에서의 INT-DHA에 의한 미생물 활성도를 나타낸다. 장치 운전 초기에 순응된 슬러지의 미생물 활성도는 무산소조, 호기1조, 호기2조에서 각각 6, 8, 8 mg O₂/g vss/day였고 유입 유량(HRT) 변화에도 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 INT-DHA가 질산화 미생물뿐만 아니라 사상균과 같은 다른 미생물들의 활성도도 측정하기 때문인 것으로 사료된다. 즉 DGGE profile에서 보인 바와 같이 장치 운전 초기에 순응된 슬러지 내에서 다양한 역할을 하는 활성 미생물들이 일부 사멸되고 그 만큼 종속영양미생물과 질산화미생물이 우점종화하여 활성도가 증가했기 때문에 전체적인 미생물 활성도는 차이가 없고 오히려 순응 슬러지 때보다 소폭 증가한 것이라 판단된다.

Park 등¹⁵⁾은 하폐수를 처리하는 생물막 반응기에서 DO 5, 7에서의 평균 미생물 활성도가 약 125 mg O₂/g vss/day라고 보고하였고, 또한 온도가 10℃일 때의 미생물 활성도는 87.4 mg O₂/g vss/day라고 보고하였으나 본 연구에서의 평균 미생물 활성도는 무산소조, 호기1조, 호기2조에서 각각 14, 11, 16 mg O₂/g vss/day였다. 이는 선행 연구의 활성도보다 6~11배 정도 작은 값이다. 그러나 본 연구에서 처리 대상으로 지정할 수원은 하폐수가 아니라 호소수, 골프장 연못수 등의 정체수였고 하폐수에 비해 유기물, 질소, 인 등의 영양염류 농도, 즉 미생물의 기질의 농도가 낮기 때문에 활성화된 미생물이 상대적으로 적은 것으로 사료된다.

4. 결론

정체 수역의 수질을 개선하기 위하여 상하류 활성화된 생물막 공정을 이용한 순환형 장치를 개발하고 유입 유량에 따른 수질 개선 효과와 생물막 내 미생물 군집 구조의 변화를 관찰한 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

- 1) 유입 유량을 1Q, 1.5Q, 3Q로 변화시키며 오염 물질 제거 효율을 비교하였을 때 1.5Q (HRT 4 hr)로 운전한 조건에서 SS, BOD₅, COD_{Mn}, COD_{Cr}, TN, TP에 대하여 각각 69.8, 83.0, 91.3, 74.1, 74.7, 88.9%의 가장 높은

제거 효율을 달성할 수 있었다.

- 2) PCR-DGGE를 이용한 미생물 군집 해석 결과, 초기 식중된 활성 슬러지의 미생물 가운데 일부가 사라지고 특정 미생물들이 우점화한 것을 확인할 수 있었다. 그리고 유입 유량의 과다한 증가는 미생물 군집의 큰 변화를 유발함을 알 수 있었으며, 유입 정체수의 성장 변화에 따라 미생물의 군집도 변화됨을 확인하였다.
- 3) FISH 수행 결과, 호소수의 유입 유량 1.5Q 조건에서 질산화 미생물인 AOB와 *Nitrobacter* spp. 및 *Nitrospira* genus의 분율이 최대가 됨을 알 수 있었고, 질산화 미생물의 분율이 처리 수질에 영향을 미침을 확인할 수 있었다.
- 4) 부착성 미생물의 미생물량은 HRT 2 hr인 C 조건에서 최대로 나타났다. INT-DHA 실험 결과, 미생물 활성도는 HRT에 큰 영향을 받지 않는 것으로 판단되었다. 본 연구의 미생물 활성도가 선행 연구보다 낮은 이유는 정체수가 하 · 폐수보다 오염물질의 농도가 낮기 때문에 상대적으로 미생물의 기질이 적어서인 것으로 추정된다.

따라서, 활성탄을 담체로 사용한 상향류 생물막 공정이 호소수 및 골프장 연못수 등 정체 수역의 수질 개선에 유용함을 확인할 수 있었다. 또한 분자생물학적 방법의 적용으로 공정 효율의 변화를 미생물 군집 변화로 설명할 수 있음을 확인하였다.

KSEE

사 사

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역 혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 황갑수, 김강주, 이영남, 여성구, 김진삼, “군산시 호소수에 서의 수질특성과 THMs 생성에 관한 연구,” 한국환경위생학회지, **27**(1), 44-50(2001).
2. Ramiro Logares, Andres Boltovskoy, Staffan Bensch, Johanna Laybourn-Parry, and Karin Rengefors, “Genetic Diversity Patterns in Five Protist Species Occurring in Lakes,” *Proist*, **160**, 301-317(2009).
3. Rebecca Lawson and Michael A. Anderson, “Stratification and

mixing in Lake Elsinore, California: An assessment of axial flow pumps for improving water quality in a shallow eutrophic lake,” *Water Res.*, **41**, 4457-4467(2007).

4. G. X. Wang, L. M. Zhang, H. Chua, X. D. Li, M. F. Xia, and P. M. Pu, “A mosaic community of macrophytes for the ecological remediation of eutrophic shallow lakes,” *Ecological Eng.*, **35**, 582-590(2009).
5. Muyzer, G. and Smalla, K., “Application of denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis(TGGE) in microbial ecology,” *Antonie van Leeuwenhoek*, **73**, 127-141(1998).
6. Zhaojun Li, Jianming Xu, Caixian Tang, Jianjun Wu, Akmal Muhammand, and Haizhen Wang, “Application of 16S rDNA-PCR amplification and DGGE fingerpringting for detection of shift in microbial community diversity in Cu-, Zn-, and Cd-contaminated paddy soils,” *Chemosphere*, **62**(8), 1374-1380(2006).
7. Schramm, A., De Beer, D., Wagner, M. and Amann, R., “Identification and activities in situ of Nitrosospira and Nitrospira spp. as dominant population in a nitrifying fluidized bedreactor,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(9), 3480-3485(1998).
8. Awong J., Bitton G., and Koopman B., “ATP, oxygen uptake rate and INT-dehydrogenase activity of actinomycete foams”. *Water Res.*, **19**(7), 917-921(1985).
9. Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Wagner, M. and Schleifer, K. H., “Phylogenetic oligodeoxynucleotide probe for the major subcalsses of proteobacteria : problems and solutions,” *Appl. Microbiol.*, **15**, 593-600(1992).
10. Amann, R., Ludwig W. and Schleifier K-H., “identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation,” *Microbial. Review*, **59**(1), 143-169(1995).
11. Koopman B., Bitton G., Logue C., John M. Bossart, and Juan M. Lopez, “Validity of tetrazolium reduction assays for assessing toxic inhibition of filamentous bacteria in activated sludge”. Toxicity screening procedures using bacterial systems(Edited by Dickson Liu and Bernard J. Dutka), 147-162(1984).
12. 이재원, 박종웅, “생물막 여과법에 의한 부영양화 호소수의 전처리,” 대한환경공학회 1998 춘계학술연구발표회 논문초록집, 스위스그랜드호텔, 서울, pp. 355-356(1998).
13. Imat, T., Kusuda, T. and Furumat, H., “Kinetic study and mathematical modeling of biofilm in an anaerobic fluidized bed,” *In Proc. 2nd Int. Specialized Conf. on Biofilm Reactors*,

-
- Paris, France, pp. 463-470(1993).
14. J. J. Park, I. G. Byun, J. C. Yu, S. R. Park, S. H. Hur and T. J. Park, "Analysis of Nitrifying Bacterial Communities in Aerobic Biofilm Reactors with Different DO Conditions using Molecular Techniques," *Water Sci. Technol.*, **57**(12), 1889-99(2008).
15. J. J. Park, I. G. Byun, S. R. Park, and T. J. Park, "Nitrifying bacterial communities and its activities in aerobic biofilm reactors under different temperature conditions," *Korean. J. Chem. Eng.*, **25**(6), 1448-1455(2008).