

Sequencing Batch Reactor (SBR)에서 포기시간 변경에 따른 영향 (2) - 미생물학적 변화

정노성 · 박영식¹⁾ · 김동석*

대구가톨릭대학교 환경과학과, ¹⁾대구대학교 보건과학부
(2010년 8월 24일 접수; 2010년 9월 11일 수정; 2010년 9월 25일 채택)

Effects of the Variation of Aeration Time in Sequencing Batch Reactor (SBR) (2) - Microorganisms

Nosung Jeong, Youngseek Park¹⁾, Dongseog Kim*

Department of Environmental Science, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

¹⁾Department of Health & Environment, Daegu University, Gyeongbuk 712-830, Korea

(Manuscript received 24 August, 2010; revised 11 September, 2010; accepted 25 September, 2010)

Abstract

The effect of the variation of aeration time on the microorganisms was investigated in sequencing batch reactor (SBRs). The cycling time in four SBRs was adjusted to 12 hours and then included different aerobic times as 1 hr, 2.5 hr, 4 hr and 5.5 hr, respectively. Four SBR systems have been operated and investigated for over 40 days. As the increase of aeration time, the consumption of glycogen within sludge at the 1st non-aeration time a little bit was increased and the production of glycogen at the aeration time was increased. Also, the produced PHB amounts and PHB production rate at the 1st non-aeration time were increased as the decrease of aeration time, which showed the activation of the phosphorus removal. The ratios of nitrifying microorganisms' number and GAOs to the total microorganisms' number in SBRs was decreased as the decrease of the aeration time, however, the PAOs ratio was almost constant irrespective of the variation of aeration time.

Key Words : SBR, Aeration time, PAOs, PHB, Glycogen

1. 서론

단일 반응기에서 다양한 생물학적 반응이 발생하는 sequencing batch reactor (SBR)은 암모니아 산화 미생물인 *Nitrosomonas* sp., 아질산성 질소 산화 미생물인 *Nitrobacter* sp.와 인 축적 미생물인 phosphorous accumulating organisms (PAOs), glycogen 축적 미생물

인 glycogen accumulating organisms (GAOs)와 ordinary heterotrophic organisms (OHOs)에 의해 유기물과 함께 각종 영양염류가 제거된다.

SBR의 enhanced biological phosphorus removal (EBPR)을 저해하는 미생물로 GAOs가 있는 것으로 알려져 있다. GAOs는 Cech와 Hartman(1993)에 의해 혐기/호기 반응조에서 발견되어 G-bacteria로 명명된 미생물로, 세포내부에 저장된 glycogen이 혐기 조건에서 기질 섭취에 필요한 에너지와 환원력을 제공하는 점과 에너지원으로의 poly-P의 역할을 제외하고는 PAOs와 동일하다(Cech와 Hartman, 1993; Mino

*Corresponding author : Dongseog Kim, Department of Environmental Science, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea
Phone: +82-53-850-3250
E-mail: kimds@cu.ac.kr

등, 1994; Liu 등, 1996a). 그러나 GAOs와 PAOs는 유기물 경쟁관계로 알려져 있으며, Cech와 Hartman (1993)은 acetate를 이용하여 인의 제거가 잘 일어나는 반응기에 glucose를 투입하면 EBPR의 실패를 초래하고 GAO가 형성되고, 또한 반응기에 glucose의 유입을 중단하면 다시 PAOs가 주종으로 형성된다고 발표한 바 있다. 그러나 다른 상반된 결과로서 glucose를 이용한 실험에서도 좋은 EBPR 효과를 거둔 결과들도 있다(Fukase 등, 1984; Matsuo와 Miya, 1987).

또한, denitrifying phosphorus accumulating organisms (DNPAOs)는 denitrifying glycogen accumulating organisms (DNGAOs)와 더불어 근래에 발견되어 활발히 연구되는 미생물 군집으로써, 인을 과잉 축적하는 능력을 지닌 PAOs 중에서 특이하게 산소 대신 NOx를 전자 수용체로 사용하고 동시에 인을 축적할 수 있는 미생물 군집이다. 세포내 저장된 기질을 사용하여 탈질을 함으로써 무산소 조건에서 추가적인 유기물의 공급이 필요치 않고 탈질과 인의 동시 제거가 가능한 것으로 알려져 있다. 위의 특성으로 인해 아직 PAOs와 DNPAOs가 상황에 따라 각기 다른 능력을 지니는 동일 미생물인지, 아니면 전혀 다른 미생물인지에 대해서는 의견이 있는 상황이다(Oehmen, 2007). 그러므로 DNPAOs에 대한 조사는 많은 연구자들에 의해 계속 이루어지고 있다 (Tsuneda 등, 2005; Kishida 등, 2006; Shi 등, 2006). 이 중 DNPAOs에 대한 연구는 DNPAOs의 탈질 능력(Carvalho 등, 2007)이나 인 제거 능력(Kuba 등, 1997) 중 하나에 관해서만 연구되었으며 DNPAOs가 포함된 biological nutrient removal (BNR) 슬러지의 질소와 인 동시 제거에 대한 연구는 거의 전무하다.

DNGAOs는 혐기 구간에서 DNPAOs와 같이 유기물을 poly hydroxyalkanoic acids (PHAs)와 같은 volatile fatty acids (VFAs)로 임시 저장하나, 호기 구간에서 임시 저장된 PHAs를 glycogen으로 축적·저장하면서도 인 흡수는 이루어지지 않는다는 차이점이 있다. 그러나 무산소 구간에서 저장된 기질을 사용하여 탈질을 수행하는 공통점이 있다(Mino 등, 1994). 이 중 DNPAOs의 탈질 능력(Carvalho 등, 2007)이나 인 제거 능력(Kuba 등, 1997)에 관하여 연구된 바는 있으나 DNGAOs에 관한 탈질화 연구는 미비할 뿐만

아니라, 이들 미생물과 같이 glycogen을 이용한 탈질에 대한 연구 또한 전무하다 할 수 있다.

또한, 위와 같은 미생물을 통한 영양염류 제거에 있어 포기 시간은 아주 중요한 요소로 작용한다. 활성슬러지의 과포기가 국내 하수와 같은 저부하 유기물 조건에서는 EBPR의 주요 실패 원인으로 지목되고 있으므로(Brdjanovic 등, 1998), 보다 적절하고 탄력성있는 포기 시스템의 구축은 EBPR을 성공적으로 구축하는 중요한 요소가 될 것이다. 그러나 이러한 중요성에도 불구하고 포기 시간의 변화에 따른 미생물의 변화 및 체내 저장물질의 변화에 대한 비교연구는 국내외적으로 전무한 상태이다.

그러므로 본 연구에서는 BNR 슬러지를 이용하여 각기 포기시간이 다른 SBRs에서의 미생물 농도 및 슬러지 침전성 변화, 미생물 체내 저장물질의 변화, 미생물 종의 변화 등을 관찰함으로써, 생물학적 질소·인 제거 운전에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에 사용된 합성폐수는 Table 1과 같이 glucose를 주 유기물 성분으로 하여 구성되었다.

Table 1. Compounds and concentrations of synthetic wastewater

Compounds	Concentration (mg/ℓ)
Glucose	200.0 mg/ℓ
MgSO ₄ · 7H ₂ O	20.0 mg/ℓ
MnSO ₄ · 7H ₂ O	22.0 mg/ℓ
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.9 mg/ℓ
KCl	2.8 mg/ℓ
(NH ₄) ₂ SO ₄	75.0 mg/ℓ
K ₂ HPO ₄	67.0 mg/ℓ
NaHCO ₃	120.0 mg/ℓ
CaCl ₂	1.5 mg/ℓ

2.2. 실험 및 분석방법

2.2.1. 실험방법

SBRs는 Fig. 1과 같이 아크릴을 사용하여 150×150×250 mm의 크기로 제작되었으며, 유입 후 최대 용적량을 4 L, 유출 후 최소 용적량이 2 L가 되도록 하

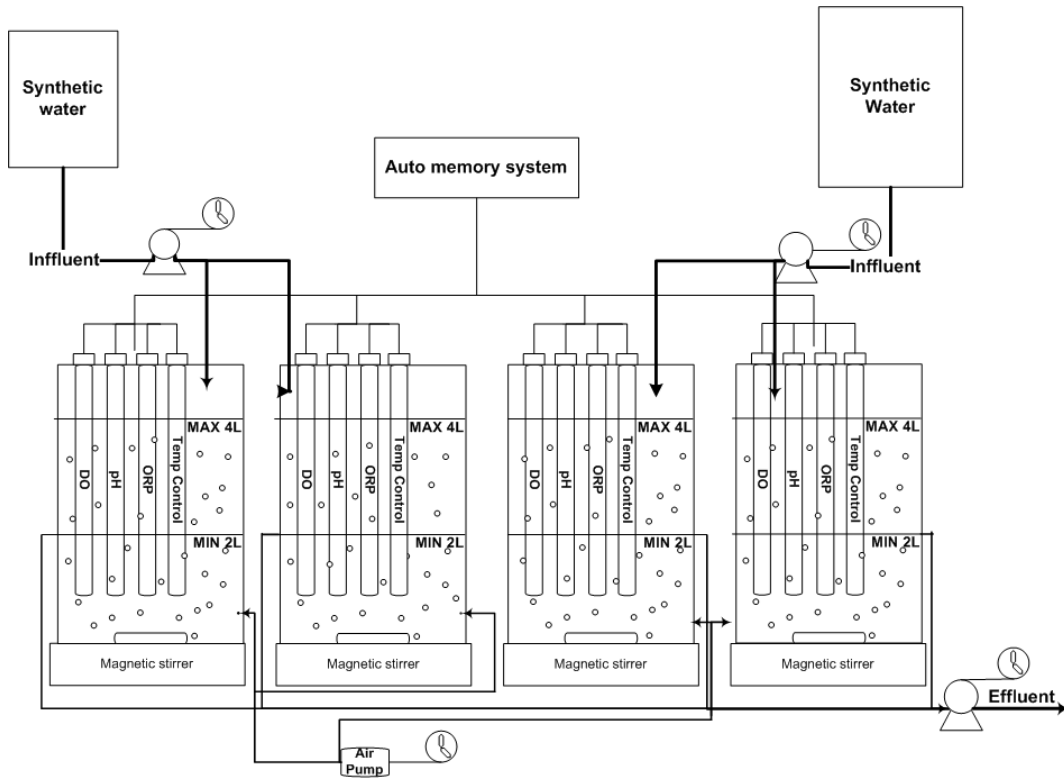


Fig. 1. Schematic diagram of A₂O SBRs.

였다. 슬러지는 glycogen을 이용한 탈질이 가능한 BNR 슬러지를 채취하여 사용하였으며, 약 40일간 운전하여 Fig. 2와 같은 질소·인 제거 특성을 나타내었다. SBR은 연속적인 시간의 흐름에 따라 비포기/포기/비포기 조건하에 운전되었다. 반응기는 유입 30분을 포함한 3시간 30분의 비포기 구간, 7시간의 포기/비포기, 각각 30분의 침전, 유출, 휴지 기간을 거쳐 총 12시간 주기로 운영되었다 (Table 2).

한 주기 운전 후에 2 L의 유출은 같은 양의 유입수로

대체되었고, 수리학적 체류시간 (hydraulic retention time, HRT)은 24 시간으로 운전되었다. 반응기는 비포기시 반응기 내 혼합을 위해 반응기 하부에 자석 교반기를 설치하여 일정하게 150 rpm으로 교반시켰으며, 온도는 자동온도 조절기를 이용하여 25±1 °C를 유지시켰다. 포기시 공기펌프를 이용하여 0.5 L/min의 공기가 반응기 하부에 설치된 산기관을 통하여 주입되었다. 기질 공급, 처리수 배출, 포기 및 혼합 등의 조작은 timer를 이용하여 제어하였다. 슬러지는 BNR이

Table 2. Operation time schedule in SBRs

	Influent	1st non-aeration	Aeration	2nd non-aeration	Settle	Draw	Idle
R1			1.0 h	6.0 h			
R2	0.5 h	3.0 h	2.5 h	4.5 h	0.5 h	0.5 h	0.5 h
R3			4.0 h	3.0 h			
R4			5.5 h	1.5 h			

Table 3. Hybridization and washing solution

Hybridization solution	NSO1225	Nb1000	EUB338	PAO462	GAOQ989
DDH ₂ O (mg/10mℓ)	2.45	3.95	7.95	4.45	7.95
1M Tris-HCl (mg/10mℓ)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
2% SDS (mg/10mℓ)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
5M NaCl (mg/10mℓ)	1.80	1.80		1.80	1.80
formamide (mg/10mℓ)	5.50	4.00	-	3.50	-
Washing solution	NSO1225	Nb1000	EUB338	PAO462	GAOQ989
DDH ₂ O (mg/10mℓ)	8.37	9.53	9.20	9.49	9.20
1M Tris-HCl (mg/10mℓ)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
2% SDS (mg/10mℓ)	0.05	0.10	0.10	0.05	0.05
5M NaCl (mg/10mℓ)	0.11	0.05	1.27	0.22	1.27
0.5 M EDTA (mg/10mℓ)	0.10	0.13	0.10	3.50	0.10

이루어지는 SBR에서 채취하여 사용하였다. pH는 인위적으로 조절하지는 않았으나 운전기간 동안 pH는 6.5~8.0사이를 유지하였다. 초기 MLVSS (mixed liquor volatile suspended solids)는 4,800 mg/L로 시작하였다.

2.2. FISH 분석방법

미생물 군집의 변화를 보기 위한 FISH (fluorescence *in situ* hybridization)는 관련문헌 (여와 이, 2006)에 따라 다음과 같은 실험 절차에 의하여 수행하였다. 원시료 적당량을 채취하여 1.5 mL pellet에서 주사기를 사용하여 약 1시간 정도 pumping한 다음, 슬러지를 적절한 크기로 파쇄하고 증류수에 희석하였다. 증류수와 1:2 비율로 4% paraformaldehyde solution을 첨가시켜 24시간 정도 세포를 고정시켰다. 24시간 후 고정된 시료를 12,000 rpm에 5분 동안 원심 분리시킨 다음 상등액은 버리고 phosphate buffered saline (1×PBS)를 적당량 첨가하였다. Vortex mixer를 이용하여 완전히 혼합하는 과정을 2회 반복하였다. 세척한 시료 중 5 μL를 cell-line에 넣고 얇게 펴서 자연 건조시켰다. 건조한 시료를 50%, 80%, 90% ethanol에 차례대로 각각 3분 동안 담갔다가 자연 건조시켰다. 미리 예열시킨 hybridization solution 8 μL와 probe 2~3 μL를 차례대로 넣고 잘 섞이게 pumping하였다. 휴지를 깐 carbonate filter case에 해당 hybridization solution으로 적신 후, cell-line을 넣고 Table 3에 따라 hybridization하였다. Cell-line의 남은 물을 조심스럽게 휴지를 이용하여 제거하였다. 미리 예열된 hybridization

washing solution (Table 4)에 담가두었다가 증류수로 가볍게 씻어낸 다음 건조하였다. 4'-6'-diamidine-2-phenyl indole dihydrochloride (DAPI, 0.33 mg/L)를 8 μL 넣고 골고루 퍼준 후, 약 20~30분정도 반응시켰다. 증류수로 세척 후, 멸균기에서 건조시켰다. Anti fade reagent 3 μL를 cell-line에 떨어뜨린 후, cover-glass를 덮고 매니큐어로 고정한 이후, 냉동실에 보관하였다가 24시간 뒤 형광현미경을 통하여 관찰하였다. 미생물 개체수 비율분석은 image inside software (DMI, Korea)를 이용하여 수행하였다.

Table 4. Solution's temperature and time

Probe	Hybridization solution		Washing solution	
	Temperature (°C)	Time (min)	Temperature (°C)	Time (min)
NSO1225	46	90	48	15
Nb1000	46	90	48	15
EUB338	38	90	40	15
PAO462	46	90	48	15
GAOQ989	46	90	48	15

FISH는 각각 Cy3가 붙여진 EUB338, PAO462, NSO1225, Nb1000, GAOQ989 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes를 사용하여 미생물 군을 관찰하였다 (Table 5). Pure cultures를 대신한 sludge samples의 targeted organisms에 적합한 probes와 다양한 hybridization temperature와 wash temperature 그리고 formamide concentration으로 하여 *in situ* conditions

Table 5. Oligonucleotide probe used in microbial analysis by FISH

Probe	Labelling Dye	Probe sequence (5'→3')	mer	Scale (μmole)	OD
NSO1225	Cy3	CGCCATTGTATTACGTGTGA	20	0.2	5
Nb1000	Cy3	TGCGACCGGTCACGG	15	0.2	5
EUB338	Cy3	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	18	0.2	5
PAO462	Cy3	CCGTCATCTACCAGGGTATTAC	22	0.2	5
GAOQ989	Cy3	TTCCCCGGATGTCAAGGC	18	0.2	5

이 최적화 될 수 있도록 하여 hybridization하였다 (Table 4). NSO1225는 질산화 미생물인 *Nitrosomonas* sp., Nb1000은 *Nitrobacter* sp., EUB338은 총 균수, GAOQ989는 GAOs, PAO462는 PAOs의 측정에 적합한 probe로 알려져 있다.

각 미생물의 결과치는 형광 현미경(Zeiss Axiolab-Fluorescence)으로 관찰하였을 때 10개의 구간에 존재하는 형광을 띠는 세균수를 계수하여 그 평균값이 총 세균수에서 차지하는 비율을 결과치로 하여 정량 분석하였다.

2.3. Glycogen 분석방법

미생물 내에 있는 glycogen은 Herbert 등(1971)의 phenol method을 사용한 Liu 등(1996b)의 분석방법에 근거하여 다음과 같이 측정하였다. 일정 부피의 슬러지를 약 4,000 rpm에서 원심분리하고 상등액은 버리고, 슬러지는 9 % NaCl 용액으로 세척하고 원심분리한 다음 다시 상등액은 버렸다. 그 다음 증류수를 원래의 부피대로 투입하고, 시료 1 mL를 채취하여 1 mL phenol 시약과 혼합한 후, 5 mL 진한 황산을 더하고 이 혼합액을 방냉한 후 spectrophotometer를 이용하여 470 nm의 파장에서 측정하였다. Phenol 시약은 1 L의 증류수에 50 g의 phenol을 용해시켜 준비하고 glucose를 사용하여 표준 곡선을 작성하였다.

2.4. PHB 분석방법

미생물의 저장 기질인 PHB (poly-hydroxy butyric acid)를 분석하기 위하여 Hesselmann 등(1999)의 분석방법을 이용하였다. 10 mL의 활성슬러지 시료를 50 % H₂SO₄ 80 μL가 담긴 시험관에 담고 테프론 마개로 닫은 후 몇 시간동안 정치시켰다. 정치 후, 4,000 rpm으로 10분 동안 원심분리시켜 상등액 9.5 mL을

제거하였다. 0.8 mL의 propanol과 0.2 mL의 H₂SO₄원액을 첨가하고 PHB와 PHV (polyhydroxy valeic acid)를 monomeric acid와 propionyl ester로 전환하기 위해 마개를 단단히 닫고 90 °C에서 60분간 가열 후 방냉하였다. 8.5 mL의 멸균증류수를 첨가하고 교반 후, propionyl ester의 자발적인 가수분해를 위해 1 mL의 희석 소화된 시료를 채취하여 1M Ca(OH)₂ 50 μL 및 H₂O 950 μL와 함께 교반시켰다. 교반한 시료를 21,000 x g에서 15분 동안 원심분리 후 상등액을 ion chromatograph로 분석하였다. Ion chromatograph system은 709 IC pump, 733 separation center, 753 suppressor module, 732 IC Detector, 762 IC interface, 838 Advanced IC Sample processor (Metrohm, Germany)로 구성되었다. 칼럼은 Metrohm SUPP-4를 사용하였다. 용리액은 1.7 mM NaHCO₃/1.8 mM Na₂CO₃을 사용하였다. External standard는 sodium 3-hydroxy butyrate를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 포기 시간 변동에 따른 MLVSS와 SVI 변화

SBR에서의 포기 시간 변동에 따른 MLVSS와 SVI의 변화는 Fig. 2와 같다. 포기 시간을 2시간 30분 이상으로 유지한 반응기에서는 MLVSS에 있어 비교적 안정적인 수치를 나타내었다. R2, R3, R4는 슬러지의 침전성이 양호하여 침전시간 시작 전에 인위적으로 약 100 mL의 슬러지를 제거시켜 슬러지의 농도를 일정하게 유지하였으나, R1의 경우에는 슬러지의 침전성이 불량하여 침전이 잘 발생하지 않았으므로 인위적으로 슬러지를 제거하지 않았다.

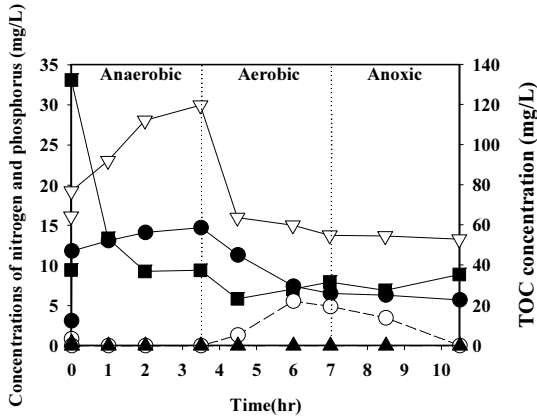


Fig. 2. Nutrient concentration of BNR sludge (■, TOC; ●, NH₄⁺-N; ○, NO₃⁻-N; ▲, NO₂⁻-N; ▽, PO₄³⁻-P).

R2의 경우에는 운전 22일 경, 일시적인 운전 불량으로 MLVSS가 3,500 mg/L 정도로 감소하였으나 곧 회복되어 4,200 mg/L의 MLVSS를 유지하였다. R3와 R4에서의 MLVSS는 4600 ± 400 mg/L를 나타내어 비교적 안정적인 값을 보였다.

포기 시간이 1시간으로 가장 짧았던 R1의 경우, MLVSS가 일시적인 감소와 증가를 나타낸 후 실험 시작 15일이 경과된 시점부터 지속적으로 감소하여 3400 ± 200 mg/L를 나타내었는데, 이는 적은 포기시간으로 인하여 슬러지의 침전성이 불량해짐으로써 반응기의

부로 슬러지가 계속 유출되었기 때문이다.

슬러지의 침전성은 각 슬러지의 SVI를 측정함으로써 알 수 있었다 (Fig. 2(b)). 포기 시간을 4시간 30분 이상으로 길게 유지한 R3와 R4에서는 SVI가 140 부근에서 일시적으로 증가한 후 지속적으로 감소하여 40일이 경과된 시점에서 SVI 50~60 정도로 매우 양호한 값을 나타내었다.

R2의 경우에는 초기 SVI 값이 150 정도로 나타났는데, 실험이 경과됨에 따라 SVI 값이 감소되어 실험이 종료된 40일 전후에는 110 정도로 감소되어 비교적 양호한 침전 상태를 나타내었다.

R1의 경우에는 실험이 경과됨에 따라 SVI 값이 증가하여 최종적으로 180 정도로 나타남으로써 슬러지 침전성이 불량하다는 것을 알 수 있었다.

전체적으로 볼 때, 포기 시간을 2시간 30분 이상으로 유지하여야 SVI 값이 낮게 유지되어 적절한 슬러지 침전성을 나타낼 수 있었고 반응조내 일정한 MLVSS 농도를 유지하기가 용이하였다.

3.2. 포기 시간 변동에 따른 glycogen과 PHB의 변화

포기 시간 변동에 따른 각 반응기내 슬러지의 단위 무게 당 glycogen과 PHB 양의 변화를 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다.

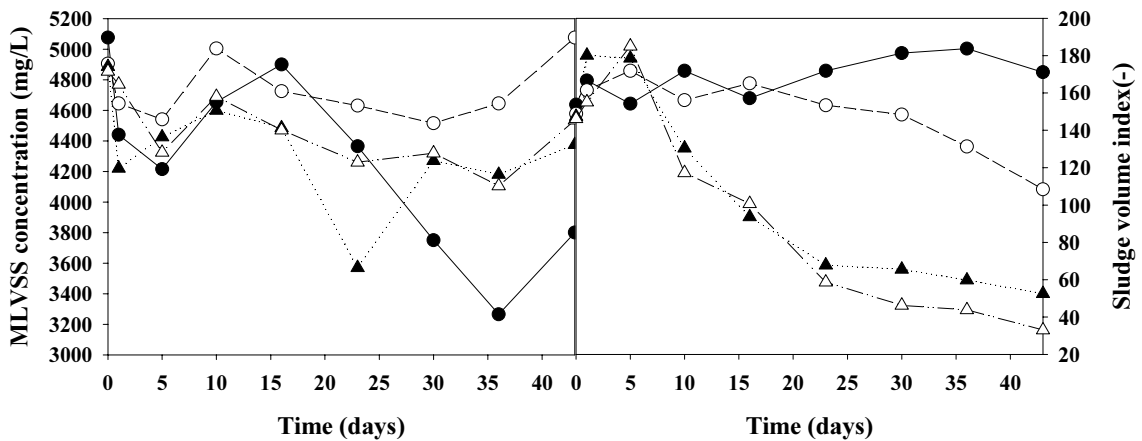


Fig. 3. Variation of MLVSS and SVI by the change of aeration time (●, R1; ○, R2; ▲, R3; △, R4).

각 포기 시간의 변화에 따라 glycogen 생성량 및 PHAs 중 주종인 PHB의 축적량은 상당한 차이를 나타내었다.

포기 시간이 1시간인 R1의 경우, 비포기 3시간 30분 동안 약 58 mg glycogen/g MLVSS의 소모량을 나타내었고, 포기 시간이 2시간 30분인 R2의 경우에는 72 mg glycogen/g MLVSS, 포기 시간이 4시간인 R3에서는 129 mg glycogen/g MLVSS를 나타내었으며, 포기 시간이 5시간 30분으로 가장 긴 R4에서는 79 mg glycogen/g MLVSS의 glycogen 소모량을 나타내었다.

또한 각 SBR내 슬러지의 초기 glycogen 함유량을 조사하였을 때, R1은 470 mg glycogen/g MLVSS, R2는 478 mg glycogen/g MLVSS, R3는 510 mg glycogen/g MLVSS, R4는 509 mg glycogen/g MLVSS로 나타났다.

전체적으로 볼 때 포기 시간을 길게 운전한 반응기 일수록 비포기 시간 내 glycogen 함유량이 높았고 포기 시간 내 glycogen 소모가 많은 것으로 나타났다.

포기 기간 1시간 중 R1에서 슬러지내 glycogen 함유량은 412 mg glycogen/g MLVSS에서 470 mg glycogen/g MLVSS으로 변화하여 58 mg glycogen/g MLVSS이 슬러지 체내에서 다시 생성되는 것으로 나타났다. 비포기 시간 중 소모된 58 mg glycogen/g MLVSS가 거의 대부분 포기 기간 중에 생성되는 것을 볼 수 있었으며, 이어지는 2차 비포기 기간에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. R2에서는 2시간 30분의 포기 기간 중 106 mg glycogen/g MLVSS 변화량을 보였고, 상대적으로 포기 시간이 긴 R3와 R4에서는 각각 216 mg glycogen/g MLVSS과 121 mg glycogen/g MLVSS를 나타내었다. 그러나 슬러지내 glycogen 생성속도의 관점에서 볼 때, R1에서는 58 mg glycogen/g MLVSS · hr, R2의 경우 42 mg glycogen/g MLVSS · hr, R3에서는 54 mg glycogen/g MLVSS · hr, R4에서는 22 mg glycogen/g MLVSS · hr의 변화를 보였다.

위의 결과들을 볼 때, 포기 시간이 길어질수록 glycogen의 변화량이 증가하고 glycogen의 변화속도는 감소한다는 것을 알 수 있었다.

2차 비포기 기간 중, R1에서는 슬러지 내 glycogen 함유량이 470 mg glycogen/g MLVSS에서 457 mg glycogen/g MLVSS으로 변화하여 약 13 mg glycogen/g

MLVSS가 감소하여 glycogen의 소모는 크지 않았으나, R2에서는 25 mg glycogen/g MLVSS, R3의 경우 70 mg glycogen/g MLVSS, R4에서는 22 mg glycogen/g MLVSS의 glycogen 소모가 발생하였다. 위 결과를 볼 때, 포기 기간 중 glycogen의 생성량이 클수록 2차 비포기 기간 중의 glycogen 소모가 크다는 것을 알 수 있었고, R3에서 2차 비포기 기간 중 glycogen의 소모가 가장 많다는 것을 알 수 있었다.

위 결과들을 종합해 볼 때, 포기 시간이 길수록 1차 비포기 기간 중 glycogen의 소모는 많았으나 그 차이는 그다지 크지 않았다. 그러나 포기 시간이 길수록 포기 기간 중 슬러지내 glycogen의 생성량은 증가하였으며 포기 시간의 변화에 따른 차이는 크게 나타났다. 또한 2차 비포기 기간에도 포기 시간이 긴 경우의 슬러지에서 높은 glycogen 소모량을 보였다. 특히 포기 시간을 4시간으로 유지한 R3에서 가장 큰 glycogen 소모량과 생성량을 나타내었다.

포기 시간 변화에 따른 각 반응기내 슬러지의 PHB 함유량 변화는 glycogen의 함유량 변화와는 다른 양상을 나타내었다 (Fig. 4).

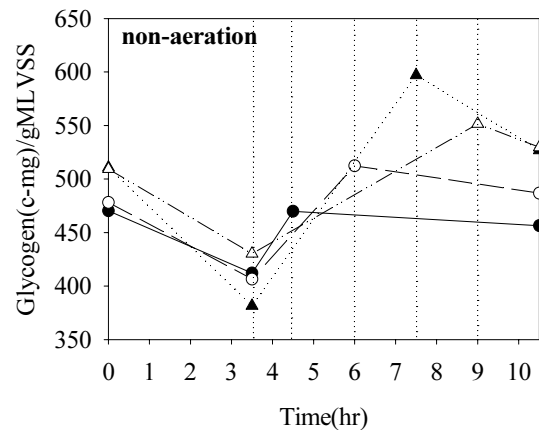


Fig. 4. Glycogen concentration within microorganisms in SBRs (●, R1; ○, R2; ▲, R3; △, R4).

1차 비포기 기간 중에는 슬러지내 PHB 농도는 증가하는 것으로 나타났는데, 이 기간 중 glycogen은 소모되는 데 비해 PHB는 생체 내에서 합성되었기 때문이다(Chua 등, 2003). 특히, R1의 경우, 초기 300 mg

PHB/g MLVSS에서 슬러지내 PHB 함유량은 증가하여 1차 비포기가 종료되는 시점에서 454 mg PHB/g MLVSS으로 변화하여 총 154 mg PHB/g MLVSS의 PHB 함유량 증가를 나타내었다. R1에 비해 다른 반응기에서는 PHB 함유량 변화가 적게 나타났는데, R2, R3, R4에서는 각각 64, 84, 63 mg PHB/g MLVSS의 함유량 변화를 나타내었다.

계속되는 포기 기간에는 슬러지내 PHB 함유량의 감소가 관찰되었다. R1의 경우 1시간의 짧은 포기 기간 중에도 슬러지내 PHB 함유량은 454 mg PHB/g MLVSS에서 342 mg PHB/g MLVSS로 감소하여 112 mg PHB/g MLVSS의 함유량 감소를 나타내었다. R2, R3, R4에서는 상대적으로 긴 포기 시간에도 불구하고 훨씬 적은 PHB 감소를 나타내었는데, 각각 76, 112, 38 mg PHB/g MLVSS의 슬러지내 PHB 함유량 감소를 보였다.

이어지는 2차 비포기 기간에도 PHB 함유량의 감소가 관찰되었으나, 이 기간 중의 감소량은 포기 기간 중의 PHB 감소량에 비해 매우 적었다.

위의 실험결과들을 보면, 포기 시간을 짧게 유지할수록 동일한 1차 비포기 기간 중의 슬러지내 PHB 생성량이 클 뿐만 아니라 PHB 생성속도도 가장 높았고, 포기 시간을 길게 유지할수록 PHB 생성량과 PHB 생성속도가 느리게 나타남에 따라 슬러지내 PHB의 생성에 불리하다는 것을 알 수 있었다. 또한 포기 시간을 짧게 유지할수록 포기 기간 중 PHB 소모량 및 소모속도가 크게 나타났으므로 포기 시간이 길어질수록 슬러지내 PHB 소모에는 부정적인 영향이 있는 것으로 판단되었다.

포기 시간의 변화에 따른 glycogen과 PHB의 변화를 종합적으로 고찰해 보면 glycogen과 PHB는 모두 질소 제거보다는 인 제거와 연계성이 있는 것으로 알려져 있으며(Filipe 등, 2001), glycogen의 변화는 인의 제거에 부정적인 영향을 미치는 것으로 알려진 GAOs와 밀접한 상관관계가 있고 PHB의 변화는 인 제거 미생물인 PAOs와 연관성이 있는 것으로 판단된다.

인의 제거 측면에서 보면, 포기 시간이 가장 짧은 R1이 1차 비포기 기간 중의 인 방출과 포기 기간 중의 인 흡수가 가장 원활하게 발생함으로써 인 제거가 가장 활발한 것으로 나타났고, 포기 시간이 길어질수록

인 제거 능력이 감소되는 것으로 나타났는데 포기 시간이 5시간 30분으로 가장 긴 R4에서는 인 제거 기작이 파괴되어 1차 비포기 기간 중의 인 방출과 포기 기간 중의 인 흡수가 거의 발생하지 않은 것으로 발표되었다(정 등, 2010).

인 제거가 잘되는 R1의 경우, glycogen의 소모 및 생성이 적게 발생하여 체내 glycogen을 이용하는 GAOs의 개체수가 적든지 아니면 GAOs의 활동이 활발하지 못하다는 것을 알 수 있었으며, 생체 내에서 인 제거에 이용되는 PHB의 생성과 소모가 많은 것으로 보아 슬러지 내에 PHB를 이용하는 PAOs의 개체수가 많거나 PAOs의 역할이 크다는 것을 알 수 있었다. R1의 경우 포기 시간이 짧아서 생성되는 $\text{NO}_x\text{-N}$ 의 양이 거의 없거나 적어서 $\text{NO}_x\text{-N}$ 의 저해 영향을 적게 받아서 PHB 소모에 의한 다중인산염의 생체내 합성이 원활하였기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 포기 시간이 길어짐에 따라 glycogen의 이용은 활발해 지는 반면에 PHB의 이용은 위축되는 것으로 나타났는데, 이는 포기 시간이 길어짐에 따라 생성되는 $\text{NO}_x\text{-N}$ 의 양이 많아지고 생성된 $\text{NO}_x\text{-N}$ 적절하게 제거되지 못함으로써 $\text{NO}_x\text{-N}$ 가 인 제거에 저해 영향을 하였기 때문인 것으로 판단된다. 본 연구 결과와 유사하게 Brdjanovic 등(1998)도 과도한 포기는 인 제거에 부정적인 영향을 미친다는 결과를 발표하였는데, 그들은 그 원인을 포기로 인해 생체 내 PHB 소모가 과다하게 발생하였고 결국은 PHB가 부족하여 인 제거가

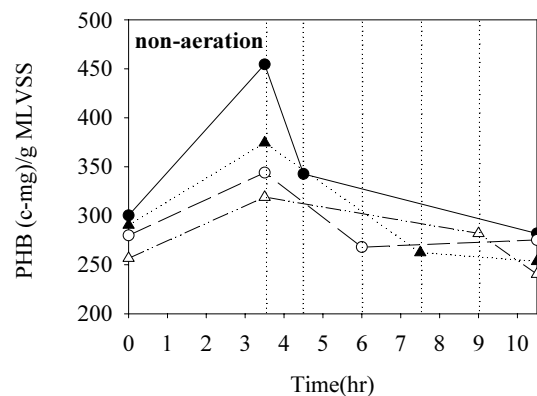


Fig. 5. PHB concentration within microorganisms in SBRs (●, R1; ○, R2; ▲, R3; △, R4).

실패에 이른다고 생각하였다. 그러나 본 결과의 각 반응기내 시작과 끝의 PHB 함유량을 비교해 볼 때 각 시작과 끝 부분에서의 PHB 함량은 그다지 큰 차이가 없고 또 각 반응기에 따른 PHB 함유량도 약간의 차이는 있으나 그다지 큰 차이가 없는 것으로 보아, 과도한 포기로 인해 PHB의 함량이 감소하여 인 제거가 실패한다는 Brdjanovic 등(1998)의 결론과 본 연구의 결론은 약간의 상이점이 있는 것으로 나타났다.

3.3. 포기시간 변동에 따른 미생물 변화

각 반응기내의 미생물의 변화는 전체 MLVSS에서 FISH와 image analyzer를 통하여 얻은 비율을 통하여 전체 미생물 양에 대한 각 특정 미생물의 양을 수치로 환산하였다. FISH를 통하여 분석한 미생물은 PAO462, NSO1225, Nb1000, GAOQ989, EUB338 미생물 군집이다 (Fig. 6).

이 중 NSO1225와 Nb1000는 질산화에 의해 NH_4^+ -N 제거에 관여하는 미생물 군집으로, NSO1225는 NH_4^+ -N를 질산화하여 제거하는데 관여하고, Nb1000

은 NO_2^- -N를 질산화하여 제거하는데 관여한다. NH_4^+ -N를 산화시키며 Nb1000보다 우선적으로 산소를 사용하는 NSO1225의 비율은 포기 시간이 적은 R1에서만 27%에서 19%로 감소하였으며 나머지 다른 반응기에서는 그다지 큰 변화를 나타내지 않았다. NO_2^- -N을 산화시키는 Nb1000는 포기 시간에 관계없이 모든 반응기에서 감소하는 경향을 나타내었으며, 이중 포기 시간이 가장 짧은 R1의 Nb1000의 경우 39%에서 16%로 감소하여 큰 감소 결과를 나타내었다. R1에 비해 상대적으로 원활한 질산화가 이루어졌던 R2와 R3, R4의 Nb1000의 경우, 13일이 경과된 시점부터 거의 일정한 비율을 나타내거나 그 비율이 약간 상승하는 경향을 나타내었다. 이는 포기 시간이 절대적으로 부족한 R1의 경우, 독립영양미생물인 *Nitrosomonas* sp.나 *Nitrobacter* sp.가 과도하게 적은 포기로 인해 아질산화와 질산화를 통해 얻을 수 있는 에너지의 양이 감소하였기 때문인 것으로 판단된다.

포기 기간 내 glycogen을 축적하는 균인 GAOQ989

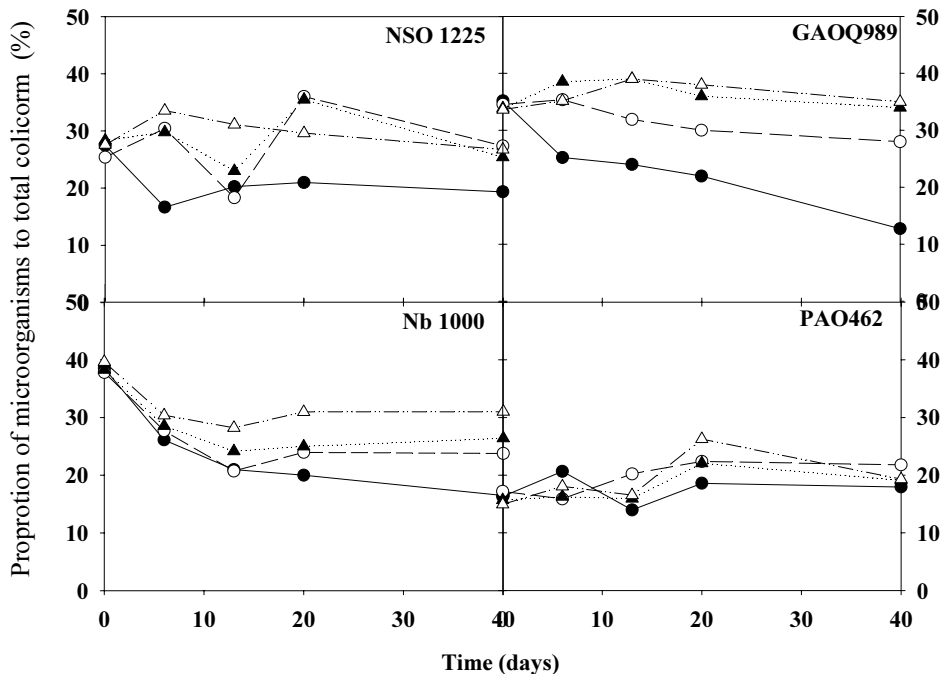


Fig. 6. Variation of microorganism in SBRs by the change of aeration time (●, R1; ○, R2; ▲, R3; △, R4).

의 경우, 앞선 glycogen 분석 (Fig. 4)에서 포기 시간이 증가할수록 대부분의 반응기에서 GAOs 비율은 포기 시간이 짧은 R1과 R2의 경우에서는 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었고 포기 시간이 비교적 긴 R3와 R4에서는 약간 증가하는 경향을 나타내었다. R1의 GAOQ989 비율은 35%에서 13%로 계속적으로 감소하여 가장 큰 감소 폭을 나타내었고, R2에서는 34%에서 28%의 적은 감소를 나타내었다. 이는 인 제거에 악영향을 미칠 수 있는 GAOs의 농도가 상대적으로 감소함으로써 인 제거가 원활하게 발생할 수 있다는 것을 나타내어 주는 자료라고 할 수 있다. 또한, 포기 시간을 4시간으로 비교적 길게 유지한 R3에서 GAOs의 비율은 34%에서 약간 증가하는 경향을 나타내었으나 전체적으로는 일정한 값을 나타내었고, 포기 시간을 5시간 30분으로 길게 유지한 R4에서는 33%에서 35%로 증가하여 GAOs의 비율이 증가하는 경향을 나타내었다.

인 미생물인 PAO462는 다른 미생물과는 달리 그 양의 변동이 크지 않고 소폭 증가한 것으로 나타났다. R1과 R2의 경우에는 포기 시간이 짧아 질산화가 적게 발생하여 $\text{NO}_x\text{-N}$ 의 저해를 적게 받아 높은 인 제거 효율을 나타냄으로써 PAOs의 비율이 거의 일정한 결과를 나타낼 수 있었다. 그러나 R3과 R4의 경우에는 과도한 포기로 인하여 $\text{NO}_x\text{-N}$ 의 발생량이 많았고 또한 인 제거효율도 매우 저조할 뿐만 아니라 R4의 경우에는 완전히 인 제거 기작이 파괴되는 경향을 나타내었음에도 불구하고 PAOs의 비율이 거의 일정하다는 것은 매우 이례적인 결과라고 할 수 있다. 또한, R3와 R4에서 실험시간이 경과됨에도 불구하고 MLVSS 농도가 거의 감소하지 않은 것과 포기 구간에서의 인 흡수 속도가 매우 느리다는 것은 초기의 PAOs종이 다른 PAOs종으로 전환되었거나 탈질 수행이 가능한 능력을 갖추게 되었을 것으로 보여지나, 이에 대해서는 보다 세세한 미생물학적 연구가 절실한 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 영양염류 제거를 위한 SBR에서 포기 시간 변동에 따른 미생물내 저장물질의 변화 및 미생물 종의 변화 등 미생물학적 변화 특성을 미시적으

로 관찰하였다.

- 1) 미생물 농도를 의미하는 MLVSS 농도에 있어서 1시간의 매우 적은 포기 시간을 유지하는 R1의 경우에는 MLVSS의 지속적인 감소를 나타내었으나, 포기 시간을 2시간 30분 이상으로 유지한 나머지 세 반응기에서 모두 일정한 MLVSS 농도를 유지하였다.
- 2) 포기 시간이 짧은 R1의 경우에는 실험 시간이 경과됨에 따라 SVI 값이 증가하여 슬러지 침전성이 불량해졌으나, 포기 시간이 길어짐에 따라 SVI 값이 감소하는 경향을 나타내어 슬러지 침전성은 양호한 것으로 나타났다.
- 3) 포기 시간이 길어질수록 1차 비포기 기간 중 glycogen의 소모는 약간 증가하였고 포기 기간 중 슬러지 내 glycogen의 생성량은 증가하는 경향을 나타내었다.
- 4) 포기 시간을 짧게 유지할수록 동일한 1차 비포기 기간에서 슬러지내 PHB 생성량이 가장 클 뿐만 아니라 PHB 생성속도도 가장 높았다. 포기 시간을 길게 유지할수록 비포기 기간의 PHB의 생성량과 생성속도가 낮아질 뿐만 아니라 포기기간의 PHB 소모량과 소모속도도 낮아짐에 따라 인 제거에 불리한 여건으로 변화하였다.
- 5) 포기 시간이 짧을수록 질산화 미생물의 감소가 뚜렷하게 관찰되었고 인 제거를 저해한다고 알려진 GAOs의 개체수 비율이 감소하였으나, 인 제거 미생물인 PAOs의 개체수 비율은 포기 시간의 변화에 따라 큰 차이를 나타내지 않았다.

참고 문헌

- 여상민, 이영옥, 2006, 생물학적 인 제거 공정에서 탄소원에 따른 미생물군집구조의 변화, 대한환경공학회지, 28(2), 165-172.
- 정노성, 박영식, 김동석, 2011, SBR에서 포기시간 변경에 따른 영향(1) - 영양염류 제거, 한국환경과학회지, 20(1), 35-47.
- Brdjanovic, D., Slamet, A., van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., Heijnen, J. J., 1998, Impact of excess aeration on biological phosphorus removal from wastewater, Wat. Res., 32, 200-208.
- Carvalho, G., Lemos, P. C., Oehmen, A., Reis, A. A. M.,

- 2007, Denitrifying Phosphorus removal : Linking the process performance with the microbial community structure, *Wat. Res.*, 41, 4383-4396.
- Cech, J. B., Hartman, P., 1993, Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphorus removal systems, *Wat. Res.*, 27, 1219-1225.
- Chua, A. S. M., Takabatake, H., Satoh, H., Mino, T., 2003, Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent, *Wat. Res.*, 37, 3602-3611.
- Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., Grady Jr., C. P. L., 2001, Effects of pH on the rates of aerobic metabolism of phosphate-accumulating and glycogen-accumulating organisms, *Wat. Environ. Res.*, 73(2), 213-222.
- Fukase, T., Shibata, M., Miyaji, Y., 1984, The role of the anaerobic stage on biological phosphorus removal, *Wat. Sci. Tech.*, 17, 69-80.
- Herbert, D., Phipps, P. J., Strange, R. E., 1971, Chemical analysis of microbial cell, in: Norris, J. R., Ribbons, D. W. (eds.), *Methods in Microbiology*, vol. 5B, Academic Press, New York, 209-344.
- Hesselmann, R. P. X., Fleischmann, T., Hany, R., Zehnder, A. J. B., 1999, Determination of polyhydroxyalkanoates in activated sludge by ion chromatographic and enzymatic methods. *J. Microbiol. Methods*, 35, 111-119.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M., Brandse, F. A., Heijene, J. J., 1997, Occurrence of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants, *Wat. Res.*, 31(4), 777-786.
- Liu, W. T., Mino, T., Matsuo, T., Nakamura, K., 1996a, Biological phosphorus removal processes effect of pH on anaerobic substrate metabolism, *Wat. Sci. Tech.*, 34, 25-31.
- Liu, W. T., Mino, T., Nakamura, K., Matsuo, T., 1996b, Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic-aerobic activated sludge without biological phosphorus removal, *Wat. Res.*, 30, 75-82.
- Matsuo, Y., Miya, A., 1987, Anaerobic uptake of organics by the activated sludge growth with anaerobic aerobic sequence, *Proc. Environ. Sni. Engr. Res (in Japanese)*, 23, 287-298.
- Mino, T., Satoh, H., Matsuo, T., 1994, Metabolism of different bacterial populations in enhanced biological phosphorus removal processes, *Wat. Sci. Tech.*, 29(7), 67-70.
- Kishida, N., Tsuneda, S., Sudo, R., 2006, Anaerobic/oxic/anoxic granular sludge process as an effective nutrient removal process utilizing denitrifying phosphate-accumulating organisms, *Wat. Res.*, 40, 2303-2310.
- Oehmen, A., Saunders, A. M., Vives, M. T., Yuan, Z., Keller, J., 2006, Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources, *Journal of Biotechnology*, 123, 22-32.
- Shi, H. P., Lee, C. M., 2006, Combining anoxic denitrifying ability with aerobic-anoxic phosphorus-removal examinations to screen denitrifying phosphorus-removing bacteria, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57, 121-128.
- Tsuneda, A., Miyauchi, R., Ohno, T., Hirata, A., 2005, Characterization of denitrifying polyphosphate-accumulating organisms in activated sludge based on nitrite reductase gene, *J. Biosci. Bioeng.*, 99(4), 403-407.