



암모니아 산화균 및 아나목스균의 배양을 통한 파일럿 규모 단일 아나목스 반응기의 성공적인 시운전

Successful start-up of pilot-scale single-stage ANAMMOX reactor through cultivation of ammonia oxidizing and ANAMMOX bacteria

최대희¹·진양오²·이철우²·정진영^{1,*}

Daehee Choi¹·Yangoh Jin²·Chulwoo Lee²·Jinyoung Jung^{1,*}

¹영남대학교, 환경공학과, 경상북도 경산시 대학로 280, 38541

²두산중공업, Water 기술개발팀, 경기도 용인시 수지구 수지로 112번길 10, 16858

¹Yeungnam university, Department of environmental engineering, Gyeongbuk Gyeongsan Daehak-Ro 280, 38541

²Doosan Heavy Industries & Construction, Water Technology Development Team, Suji-gu Suji-ro 112beon-gil 10, 16858

pp. 371-379

pp. 381-388

pp. 389-398

pp. 399-409

pp. 411-419

pp. 421-434

pp. 435-443

pp. 445-451

pp. 453-460

pp. 461-470

ABSTRACT

The lack of seed sludges for Ammonium Oxidizing Bacteria (AOB) and slow-growing ANaerobic AMMonium OXidation (ANAMMOX) bacteria is one of the major problem for large-scale application. In this study, 24m³ of single-stage SBR (Sequencing Batch Reactor) was operated to remove nitrogen from reject water using AOB and ANAMMOX bacteria cultivated from activated sludge in the field. The ANAMMOX activity was found after 44 days of cultivation in the ANAMMOX cultivation reactor, and then 0.66 kg N/m³/d of the nitrogen removal rate was achieved at 0.78 kg N/m³/d of the nitrogen loading rate at 153 days of cultivation. The AOB cultivation reactor showed 0.2 kg N/m³/d of nitrite production rate at 0.4 kg N/m³/d of nitrogen loading rate after 36 days of operation. The cultivated ANAMMOX bacteria and AOB was mixed into the single-stage SBR. The feed distribution was applied to remove total nitrogen stably in the single-stage SBR. The nitrogen removal rate in the single-stage SBR was gradually enhanced with an increase of specific activities of both AOB and ANAMMOX bacteria by showing 0.49 kg N/m³/d of the nitrogen removal rate at 0.56 kg N/m³/d of the nitrogen loading rate at 54 days of operation.

Key words: Ammonia oxidizing bacteria, Anaerobic ammonium oxidation, Activated sludge, Mass cultivation, Sequencing batch reactor

주제어: 암모니아산화균, 혐기성 암모늄 산화, 활성 슬러지, 대량 배양, 연속회분식반응기

1. 서 론

국내 하·폐수 처리장에서는 2003년부터 전국적으로 총 질소에 대한 배출허용 기준이 적용되어 왔고, 현재 질소

의 배출허용기준은 동절기를 포함하여 TN 20 mg/L로 설정되어 있다. 하지만 전세계적으로 급속한 인구증가와 도시화로 인해 자연계로 유입되고 있는 질소의 양이 급속히 증가되고 있는 반면, 배출허용기준은 점차 강화되고 있어, 보다 효율적인 질소 제거 방법은 요구되고 있는 실정이다 (Choi et al., 2011; Wang et al., 2015).

Received 12 July 2018, revised 10 August 2018, accepted 20 August 2018

*Corresponding author: Jinyoung Jung (E-mail: jinjung@ynu.ac.kr)

하폐수 처리장에서 배출되는 총 질소 농도를 저감시키기 위한 가장 효율적인 방법중의 하나는 반류수 내 고농도 질소 성분을 제거하는 것이다 (Rosén et al., 1998). 반류수는 유입 유량 대비 약 2%인 반면, 유입 질소 부하량 대비 약 30%인 특성을 지니고 있으며, 대부분 별도로 처리되지 않고 유량 조정조나 침사지로 반송시켜 하폐수처리장의 질소부하를 가중시키는 요인으로 작용하고 있다 (Ma et al., 2016; Wett et al., 1998).

질소를 제거하는 방법으로 크게 물리화학적 공법과 생물학적 공법이 있지만 경제적 이유로 질산화와 탈질화로 구성된 생물학적 질소 제거 공법이 보편적으로 사용되어왔다 (Gao et al., 2015). 하지만 달성 가능한 질소 제거 속도가 $0.2 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ 이하로서, 처리 설비용량이 크고 긴 체류시간이 요구되며, 질산화 과정에서 요구되는 막대한 포기 비용 ($4.57 \text{ kgO}_2/\text{kg NH}_4^+\text{-N}$)과 외부 탄소원 주입 비용 ($5\sim 5.5 \text{ kgCOD/NO}_3^-\text{-N}$)은 높은 유지 관리 비용 측면에서 문제시 되고 있다 (Arnold et al., 2000; Liu and Wang, 2017).

최근에는 고농도의 질소 화합물을 함유한 반류수를 처리하기 위하여 유럽을 중심으로 기존 질산화/탈질화 공법대비 운전 비용을 50% 까지 절감 할 수 있는 새로운 개념의 혐기성 암모늄 산화 (ANaerobic AMMonium OXidation, ANAMMOX)공법이 개발되었다 (Jetten et al., 2001). ANAMMOX 미생물은 아질산염을 전자 공여체로 혐기성 조건에서 암모늄을 질소 가스로 전환시키는 독특한 질소 제거 매커니즘을 지니고 있어, 부분 아질산화 (Partial Nitritation, PN)와 연계되어 많은 공법들이 개발되어 왔다 (Van et al., 2001). 대표적으로 sequencing batch reactor (SBR), attached growth biofilm reactor, upflow granular sludge reactor 공법 등의 형태로 많은 상용 규모 공법이 설치되어 운전 중에 있으며, 대부분은 SBR 공법을 근간으로 가장 많은 상용화 실적을 보유 중에 있다 (Lackner et al., 2014). 이에 반해 국내의 경우에는 연구실 및 대학교에서 소규모의 연구는 수행된 반면, 상용규모의 연구는 거의 없는 실정이며, 아직까지 괄목할 만한 연구 실적을 나타내지는 못하고 있다.

ANAMMOX 미생물은 약 11일 정도의 느린 배가시간으로 인해 실공정 적용시 식종미생물의 확보가 가장 큰 문제점으로 지적되고 있다 (Strous et al., 1998). 실제로 입상형태의 ANAMMOX 미생물을 이용하여 로테르담(Rotterdam)에 설계된 첫 번째 70 m^3 규모 반응기에

서는 식종 슬러지 부족으로 인하여 시운전 기간이 약 800일이 소요되었다 (Van et al., 2007). 따라서, 초기 운전 단계에서 충분한 양의 ANAMMOX 미생물을 확보하는 것은 공정 상용화시 필수적인 요건이 될 수 있을 것이다.

국내 상용화 실적이 거의 없는 상황에서 ANAMMOX 식종 슬러지 확보는 공정 상용화 과정에서 가장 큰 과제가 될 것이다. 본 연구에서는 부분 아질산화 반응과 ANAMMOX 반응을 단일 반응조에서 동시에 구현시키기 위하여 224 m^3 규모의 SBR pilot-plant를 활용하였으며, AOB(Ammonium Oxidizing Bacteria) 및 ANAMMOX 미생물의 식종미생물은 국내 하수처리장의 활성슬러지를 이용하여 배양하였다. 본 연구의 목적은 국내의 고도처리용 활성슬러지를 이용하여 현장에서 AOB 및 ANAMMOX 미생물을 배양하고, 이들 배양된 미생물을 24 m^3 규모의 단일 아나모스 반응기에 식종하여 실제 반류수를 처리하였을 때 질소의 제거효율과 제거속도 등을 평가하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 AOB 미생물 배양

AOB 미생물을 이용한 부분 아질산화 반응은 24 m^3 규모의 SBR에서 수행되었으며, 식종슬러지는 대구시 S 하수처리장내 A^2/O 공법의 반송슬러지로부터 채취되었다. 배양조 운전 초기 미생물 농도는 $4,300 \text{ mg MLSS/L}$ 이었다. AOB 배양조에서 적용된 주요 운전 전략으로 아질산염을 추가적으로 산화시키는 NOB(Nitrite Oxidizing Bacteria) 활성을 억제시키기 위하여 반응조 내 용존 산소 농도는 산기 장치 on/off 시스템을 통하여 $0.4\sim 0.6 \text{ mg/L}$ 범위로 유지하였고, 유입 암모늄의 과산화를 막기 위해 유출 pH ($6.8\sim 7.0$)를 기준으로 산기 장치 on/off 시점은 자동으로 조절하였다.

2.2 ANAMMOX 미생물 배양

12 m^3 규모의 ANAMMOX 배양조에 식종된 슬러지는 대구시 S 하수처리장 A^2/O 공정내반송슬러지로부터 얻어졌고, 초기 식종된 슬러지의 농도는 $5,533 \text{ mgMLSS/L}$ 이었다. ANAMMOX 미생물은 용존 산소에 대한 독성 영향이 크기 때문에 ANAMMOX 배양조는 밀폐형으로 설계되었고, 설치된 항온 장치에 의



하여 반응기의 온도는 25~30°C로 유지되었다. 배양 초기 ANAMMOX 활성 여부에 따라 회분식 형태로 운전하였으며, 기질은 NaNO_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 시약을 통하여 공급하였다. 이때 반응조 내 잔류하는 아질산염의 농도는 ANAMMOX 독성 영향을 고려하여 50 mg/L 이하로 엄격히 제한되었다. 이후 ANAMMOX 활성도 발현 이후 배양조는 반류수 전처리 단계인 부분 아질산화 반응의 안정화와 함께 연속식으로 전환되었으며, ANAMMOX 활성은 질소 제거 속도를 기준으로 평가하였다. ANAMMOX 미생물의 현장배양 후 단일 반응조 내 식종까지 약 5개월의 배양시간이 소요되었다.

2.3 SBR 반응조 및 운전 전략

안정적인 부분 아질산화 반응 달성 이후, 연속 배양된 ANAMMOX 미생물은 24 m³규모의 단일 ANAMMOX 반응기로 식종 되었으며, 식종 된 AOB와 ANAMMOX 미생물의 비율은 1:1 이었다. 식종 직후 기존 SBR공법을 근간으로 유입수 분할 주입 전략을 활용하여 24 m³규모의 단일 반응조에서 부분 아질산화 및 ANAMMOX 반응은 순차적으로 구현되었다. 유입수 분할 주입 횟수는 유입 암모늄 농도에 따라 2~3회로 조절되었으며, 유입 분할 주입과 함께 반복적으로 혐기 조건과 호기조건을 제공하였다. 반응조 내 기질 소모 속도 및 슬러지 침강성에 따라 수리학적 체류시간이 (Hydraulic Retention Time, HRT) 조절되었다. 유입수 분할 주입 전략에 대한 보다 상세한 정보는 사전에 수행된 연구 결과를 참고 하였다 (Choi et al., 2018).

2.4 실제 반류수 특성

S 하수처리장내에서 발생하는 반류수 특성은 Table 1에 나타낸 바와 같다. 유입 질소 성분중 대부분은 암모늄이었으며, 그 농도는 평균 837.7 mg/L 이었다. 유입 유기물 농도는 매우 낮은 것으로 나타나, 유입 $\text{TCOD}_{\text{Cr}}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 및 $\text{BOD}_5/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 비는 각각 0.41, 0.15로 조사되었다. 기존 질산화 및 탈질화로 구성된 질소 제거 공법에서 요구되는 적정 C/N비가 3~6인 점을 고려할 때 본 연구에서 적용 대상 폐수의 C/N비는 매우 낮은 것으로 평가되었다. 이와 함께 유입 암모늄의 부분 아질산화 반응을 위해서는 유입 $\text{HCO}_3^-/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 몰 비가 매우 중요하다 (이론적으로 AOB에 의해 1 mole의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 산화시 2 mole의 HCO_3^- 를 요구함).

Table 1. Characteristics of the reject water

Unit: mg/L	Value
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	837.7 ± 58.4
$\text{NO}_2^-\text{-N}$	2.8 ± 1.9
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	1.9 ± 0.9
Alkalinity (CaCO_3)	3,246 ± 78.4
TCOD_{Cr}	340 ± 10
BOD_5	128.3 ± 7.0

본 연구에서의 처리 대상 폐수의 경우 그 비가 1.1로 조사되어 부분 아질산화 반응을 달성하기에 적합한 폐수 성상을 나타내었다.

2.5. ANAMMOX 활성도 평가

AOB의 비활성 속도(Specific Activity)는 specific oxygen utilization rate(SOUR) 실험을 통하여 측정되었으며, ANAMMOX 미생물의 비활성 속도는 SAA(Specific ANAMMOX Activity) 실험 방법을 통하여 측정되었다. 각각 미생물의 비활성 속도는 단일 반응조에서 부분 아질산화 및 ANAMMOX 반응이 동시에 구현된 이후 주기적으로 측정되었다.

SAA는 회분식 실험을 통하여 조사하였으며, 275 mL serum bottle에서 수행되었고, 실험에서 사용된 배지의 조성은 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50 mgN/L, NaNO_2 50 mgN/L, NaHCO_3 504 mg/L, KH_2PO_4 27mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 123 mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 176 mg/L이었으며 trace element solution I, II는 각각 1 mL/L 첨가하였다 (Van de Graaf et al., 1996). 모든 실험은 shaking incubator(Vision, VS-8480)에서 150 rpm, 35 ± 1°C의 조건을 유지하며 수행되었다. SAA 결과는 반응조 내 잔류하는 암모늄과 아질산염의 기질 소모 속도에 미생물 농도 (mg VSS/L)를 나눔으로써 계산되었다.

SOUR 실험은 300 mL bottle에서 수행되었으며, 사용된 배지는 100 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ 와 질산화를 위해 요구되는 충분한 알칼리도를 첨가한 합성 폐수로 제조하였고, pH는 7.5로 조절하였다. 약 5분 간격으로 NOB 저해제인 NaN_3 50μM과 AOB 저해제인 allylthiourea (ATU) 86 μM를 첨가함으로써 암모늄 및 아질산화 산화를 위해 요구되는 산소 소모 속도를 산정하였다 (Rongsayamanont et al., 2010). 이후 AOB 미생물의 비활성 속도는 반응조 내 미생물 농도 1gVSS당 산소 소

pp. 371-379

pp. 381-388

pp. 389-398

pp. 399-409

pp. 411-419

pp. 421-434

pp. 435-443

pp. 445-451

pp. 453-460

pp. 461-470

모 속도로 산정되었다.

2.6. 분석 방법

모든 시료는 각 반응기의 유입수와 유출수를 채취하여 0.45 μm 의 공극을 가진 cellulose acetate 재질의 membrane filter를 이용하여 여과한 후 대상물질을 분석하였다. NO_2^- -N, alkalinity, chemical oxygen demand (COD)는 standard methods(APHA, 2005)에 따라 분석을 실시하였다. 그리고 NO_3^- -N은 이온크로마토그래피 (ICS2100, DIONEX)를, NH_4^+ -N은 질소분석기(2200 Kjeltex Auto Distillation, FOSS TECATORS)를 이용하여 분석을 진행하였다. pH와 temperature는 Horiba pH meter F-51을 이용하여 측정하였고, biological oxygen demand(BOD), suspended solid(SS)는 수질오염 공정시험방법에 따라 분석을 실시하였다.

3. 결과 및 토론

3.1. 아질산화 미생물 배양

질산화균인 AOB와 NOB의 대표적인 저해 물질은 free ammonia, FA (NH_3)와 free nitrous acid, FNA (HNO_2) 등이며, 본 연구에서의 대상 폐수 성상 및 운전 효율을 고려할 때 참고 문헌을 바탕으로 산정된 FA 및 FNA 농도 범위는 각각 43.7~69.4 mgNH_3/L 와 3.4~3.7 mgHNO_2/L 로 나타났다 (Vadivelu et al., 2007). AOB의 활성 저해 범위로 고려되는 FA와 FNA 농도 범위는 각각 10~150 $\text{mg NH}_3/\text{L}$, 0.2~2.8 $\text{mg HNO}_2/\text{L}$ 인 점을 고려하여, 운전 초기 HRT는 7.3일로 조절하였다 (Vadivelu et al., 2007). 이후 유출수 내 잔류하는 기질 농도에 따라 HRT는 1.5일까지 감소시켰다. Fig. 1에 나타낸 바와 같이 운전 초기 과산화로 인하여 유입 암모늄의 78%는 산화되는 것으로 나타났으며, 산화된 대부분의 질소는 탈질 반응을 통하여 제거되는 것으로 나타났다. 이에 따라 운전 초기 산정된 ACR(Ammonium Conversion Rate)와 NPR (Nitrite Production Rate)는 각각 0.04, 0.01 $\text{kg N/m}^3/\text{d}$ 이었다. 운전 시간이 지속됨에 따라 반응조 내 NPR은 점차적으로 증가하였으며, 배양 종료 시점에 산정된 ACR과 NPR은 각각 0.23, 0.22 $\text{kg N/m}^3/\text{d}$ 로 나타나 안정적인 부분 아질산화 반응은 달성되었다.

이러한 결과는 반응조 운전 조건에 따라 형성되는 FA 및 FNA에 의해 NOB가 효과적으로 저해되었음을

나타낸다. 이와 함께 반응조 내 제한된 용존 산소 농도는 AOB와 NOB의 산소 친화도 경향을 고려한 운전 인자로서 많은 연구자들에 의해 사용되어져 왔다 (Jeanningros et al., 2010). 본 연구에서 이러한 AOB와 NOB의 기질 저해 특성 및 동역학 특성에 적합한 운전 전략을 구성함으로써 운전 35일 만에 안정적인 부분 아질산화 반응은 달성되었다 (유출수 NO_2^- -N/ NO_2^- -N+ NO_3^- -N 비 = 0.94, 유출수 NO_2^- -N/ NH_4^+ -N 비 = 1.2). 안정적인 부분 아질산화 반응 달성 이후, ANAMMOX균을 식종 하기 위한 시기는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 질소 손실 수준을 기준으로 선정하였다. 부분 아질산화 반응을 위해 요구되는 용존 산소 농도 범위는 탈질 미생물이 활성을 나타낼 수 있는 범위로 유지된다. 이에 따라 운전 초기 생성된 아질산염 또는 질산염은 긴 HRT로 인하여 248.2 $\text{mg} (\text{NO}_2^-$ -N+ NO_3^- -N)/L의 질소 손실 (탈질 반응에 의한 질소 제거) 이 발생하는 것으로 나타났으며, 운전 시간이 지속됨에 따라 손실된 질소 농도는 5 mg/L 이하로 나타났다. 본 연구에서의 주 목적은

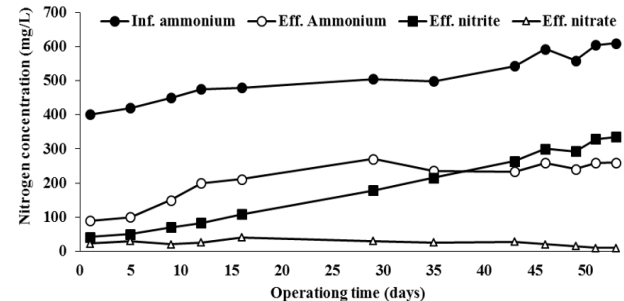


Fig. 1. Influent and effluent nitrogen concentration in the AOB cultivation reactor.

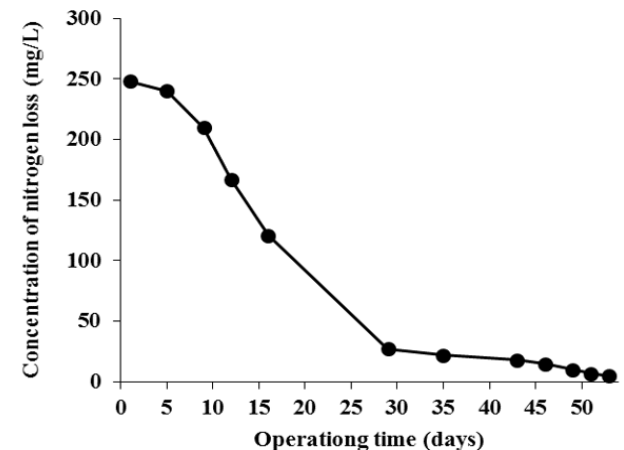


Fig. 2. Fluctuation of nitrogen loss in the AOB cultivation reactor.



단일 반응조 내에서의 부분 아질산화 및 ANAMMOX 반응을 동시에 구현하는 것이다. 따라서 ANAMMOX 미생물과 기질 경쟁 관계인 있는 탈질 미생물의 활성은 ANAMMOX 미생물의 식종 전에 필수적으로 저해되어야만 한다. 따라서 손실된 질소 농도는 배양된 AOB 미생물에 ANAMMOX균을 혼합 배양하기 위한 주요 인자로 고려되었으며, 배양된 AOB와 ANAMMOX를 혼합 배양 하는 시점은 손실된 질소 농도가 5 mg/L 이하로 감소한 시점으로 판단하였다.

3.2 ANAMMOX 미생물 배양

ANAMMOX 미생물 배양조는 ANAMMOX 반응의 발현 정도를 기준으로 회분식 또는 연속식 형태로 운전되었다. 운전 초기 탈질 미생물의 사멸화를 유도하기 위하여 회분식 운전 방법은 적용되었으며, 탈질 미생물의 기질로서 아질산염을 주기적으로 공급하였다. NaNO_2 를 이용하여 주기적으로 공급된 아질산염은 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 반응조 내에서 빠르게 소모되는 것으로 나타났다. 반면 암모늄 농도의 경우에는 운전 초기 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 시약을 통하여 주입된 경우를 제외하고 지속적으로 증가하였으며, 운전 44일 이후부터 ANAMMOX반응에 의하여 반응조 내 암모늄 농도는 점차 감소하였다.

낮은 C/N비 조건에서의 탈질 미생물은 내생성장(Endogenous Growth) 단계에 접어들게 되며, 이 과정에서 종속 영양 미생물의 세포 용출(Cell Lysis)에 의해 소량의 COD로 측정 될 수 있는 전자 공여체와 함께 암모늄이 용출된다 (Gong et al., 2013). 따라서 운전 초기 빠르게 감소하는 아질산염은 용출된 COD로 인한 외인성탈질

(Exogenous Denitrification) 반응과 내생탈질 (Endogenous Denitrification)반응이 동시에 구현된 것으로 판단되며, 세포 용출(Cell Lysis) 속도가 현저히 감소한 이후에는 내생탈질(Endogenous Denitrification) 반응이 우점화된 것으로 판단된다 (Van Loosdrecht and Henze, 1999).

운전 44일 이후 반응조 내 암모늄 농도는 점차 감소하였는데, 혐기성 조건에서 아질산염과 동시에 암모늄이 제거되는 반응은 ANAMMOX의 대표적인 생물학적 질소 제거 경로로 알려져 있다 (Strous et al., 1997). 따라서, 혐기성 반응조 내 암모늄 농도의 감소는 아질산염에 대한 기질 경쟁에서 탈질 미생물보다 ANAMMOX 미생물이 우위에 있음을 나타내는 지표로 평가되었다.

MLSS기준으로 반응조 내 식종된 활성 슬러지 농도 변화는 Fig 4에 나타내었다. 운전 초기 식종된 미생물 농도는 5,533 mg/L이었으며, 시간이 지남에 따라 MLSS 농도는 점차 감소하는 것으로 나타났다. 이후 반응조 내 암모늄 농도 증가율 감소와 함께 MLSS농도는 큰 변화를 나타내지 않았다. 운전 44일 이후 활성 슬러지의 추가 식종을 통하여 반응조 내 MLSS농도는 증가 되었으며, 그 근거는 다음과 같다. AOB와 ANAMMOX가 혼합 배양된 반응조에서의 목표 설계 인자가 유입 암모늄 질소 농도 700 mg/L에서 HRT는 1 days인 점을 고려할 때, 운전 44일에 측정된 SAA 결과 0.15 g/gMLSS/d는 다소 낮은 것으로 판단되어(SAA 결과를 바탕으로 산정된 적정 MLVSS 농도는 4,667 mg/L) 활성 슬러지는 추가로 식종되었다. 추가 식종 이후 미생물 농도의 감소 경향은 배양조 운전 초기 경향과 유사한 것으로 나타났으며, 운전 75일 이후 ANAMMOX 배양조에서의 MLSS 농도는 4,210 mg/L 이었다.

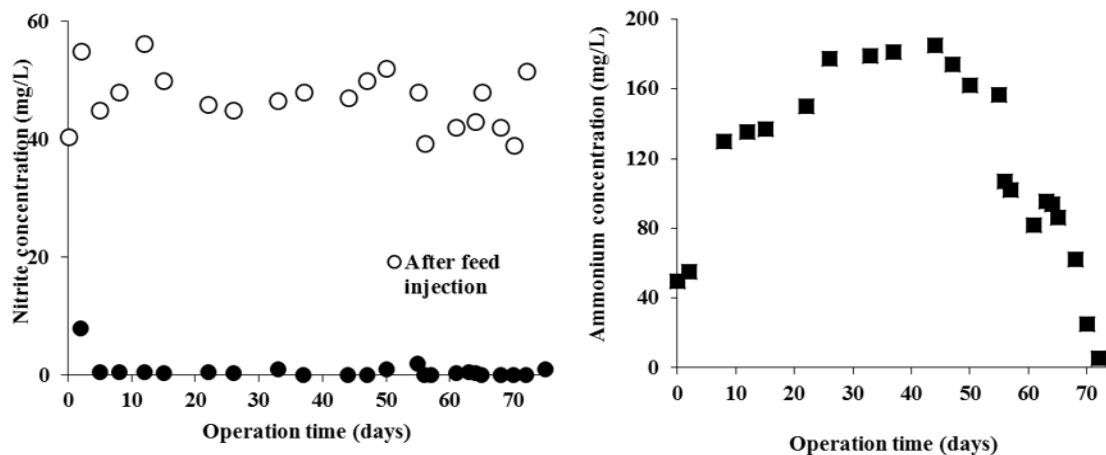


Fig. 3. Variation of nitrite and ammonium concentration in the ANAMMOX cultivation reactor during fed-batch cultivation.

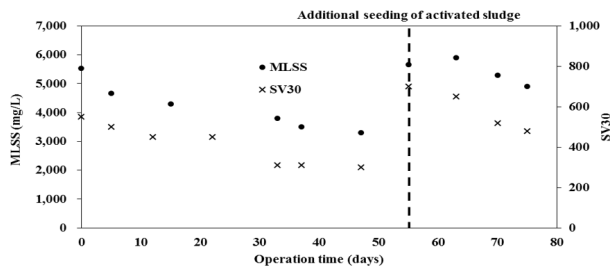


Fig. 4. Change of MLSS concentration and SV30 value in the ANAMMOX cultivation reactor during fed-batch operation.

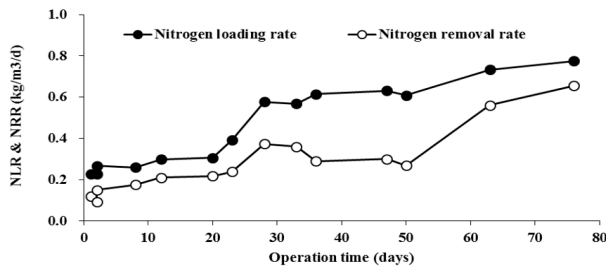


Fig. 5. Nitrogen loading rate and nitrogen removal rate in the ANAMMOX cultivation reactor during continuous cultivation.

운전 77일부터 ANAMMOX 배양조는 연속식으로 전환하였다 (Fig 5). 배양 결과 운전 초기 나타난 질소 제거 속도는 $0.12 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ 인 반면, 시간이 지남에 따라 ANAMMOX 미생물의 활성도는 점차 증가하는 것으로 나타났다. ANAMMOX 배양조의 연속식 운전은 76일 동안 지속되었고, 단일 반응 시스템에서 AOB와 혼합 배양되는 시점에 달성한 최대 질소 제거 속도는 $0.66 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ 를 나타내었다.

본 연구에서 제시된 활성 슬러지로부터 ANAMMOX 미생물 배양 protocol은 ANAMMOX 식중 슬러지가 거의 없는 국내 현황을 고려할 때 공정 상용화를 위해 매우 효과적으로 이용 될 수 있을 것으로 판단된다.

3.3 단일 반응조에서 부분 아질산화 및 ANAMMOX를 통한 질소 제거능 평가

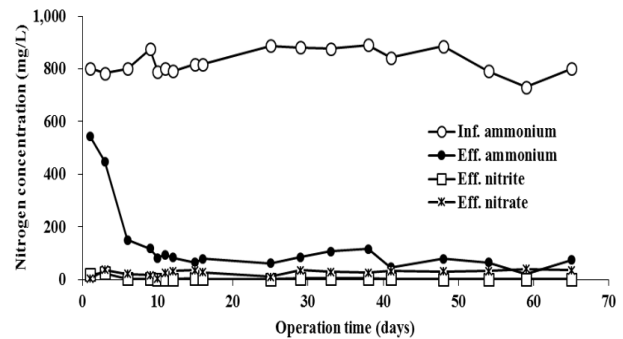
24 m³규모에서 배양된 AOB와 12 m³규모에서 배양된 ANAMMOX 미생물은 단일 반응조에서 부분아질산화 및 ANAMMOX 반응을 동시에 유도하기 위하여 혼합 배양되었고, 실제 반류수를 대상으로 65일 동안 평가된 질소 제거능을 Fig. 6에 나타내었다.

단일 반응조에서 ANAMMOX 미생물의 저해 인자인 용존 산소 농도와 아질산염의 농도는 각각 0.6 mg/L ,

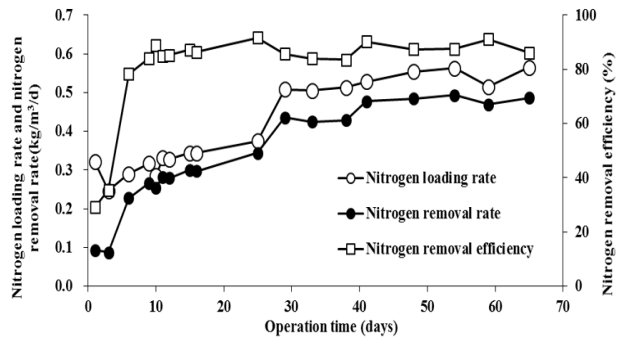
50 mg/L 이하로 제한하였고, 이를 위해 유입수 분할 주입 전략을 적용하였다. 유입수 분할 주입 횟수는 유입 암모늄 평균 농도 $837.7 \text{ mg NH}_4^+-\text{N/L}$ 을 고려하여 3회로 조절되었다.

운전 초기 반응조 내 잔류하는 암모늄 농도는 운전 9일 만에 100 mg/L 이하로 감소되어 질소 제거 효율은 빠르게 증가하는 것으로 나타났다. 유입 질소 부하 $0.32 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ 에서 총 질소 제거 속도는 $0.27 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ 로 달성되었으며, 질소 제거 효율은 84.1% 로 나타났다. 수리학적 체류시간은 부분 아질산화 및 ANAMMOX 반응에 의한 기질 소모 속도를 기준으로 77hr에서 34.1hr로 조절하였다. 연속 운전 시간이 지남에 따라 질소 제거 속도는 점차 증가되었으며, 달성한 최대 질소 제거 속도는 유입 질소 부하 $0.56 \text{ kgN/m}^3/\text{d}$ 에서 $0.49 \text{ kgN/m}^3/\text{d}$ 로 나타났다. 총 질소 제거 효율은 $87.0 \pm 2.7\%$ 을 나타내었으며 운전기간내내 안정적인 질소 제거능을 나타내었다.

효과적으로 배양된 AOB 및 ANAMMOX 이용하여 단일 반응 시스템을 구성할 경우 시운전 기간이 매우 짧은 것으로 나타났으며, 운전 9일 만에 기존 질소 제거



(a)



(b)

Fig. 6. Influent and effluent nitrogen concentration (a), change of nitrogen loading rate and nitrogen removal rate (b) in the single-stage SBR with nitrification and ANAMMOX.



공법의 설계인자로서 많이 활용되고 있는 $0.2 \text{ kgN/m}^3/\text{d}$ 에 비해 높은 질소 제거 속도를 나타내었다.

3.4 단일 반응조에서의 슬러지 특성 및 활성 변화

운전 초기 단일 반응조 시스템에서 식종된 미생물 총 농도는 $8,120 \text{ mgMLSS/L}$ 이었다. 기존 SBR 공법에서 운전 인자로서 반응조 내 미생물 농도는 통상적으로 $4,000 \text{ mgMLSS/L}$ 이하로 유지된다 (Chen et al., 2009; Sipma et al., 2010). 본 연구에서는 막 분리 장치 또는 담체를 활용하지 않고도 기존 SBR 공법대비 높은 슬러지 농도를 효과적으로 유지할 수 있었다. 이러한 결과는 미생물 침강성 차이에 기인하는 것으로 조사되었는데, Fig. 7에 운전 기간 동안의 슬러지 침강성을 나타내는 지표인 SVI(Sludge Volume Index) 변화를 나타내었다. 운전 초기 SVI값은 다소 증가하는 경향을 나타내었지만 SVI는 지속적으로 감소하였다. 기존 생물학적 질소 제거 공법에서 SVI값이 100 mL/g 보다 높을 경우 슬러지 침강성이 좋지 못한 것으로 평가된다 (Kargi et al., 2002). 본 연구에서 적용된 단일 반응 시스템에서는 운전 초기 SVI는 73.9 mL/gMLSS 로 나타났으며, 운전 59일 이후 SVI값은 53.9 mL/gMLSS 로 나타나 침강성이 매우 우수한 것으로 판단된다.

기존 질소 제거 공법 대비 슬러지 침강성이 높은 이유는 ANAMMOX 미생물의 입상화(Granulation)에 기인된 것으로 설명될 수 있을 것이다. 질산화 및 탈질화 반응으로 구성된 활성 슬러지의 경우 대부분은 플록(Floc) 형태로 존재한다 (Patureau et al., 1998). 이에 반해 ANAMMOX 미생물은 입상슬러지(Granule)를 형성함으로써 활성 슬러지 플록에 비하여 높은 밀도를 나타내고 있고 슬러지 침강성 또한 향상된다 (Ni et al., 2015).

미생물 입자 크기별 활성 및 분포 현황을 조사하기 위하여, $100 \mu\text{m}$, $200 \mu\text{m}$ 를 기준으로 미생물 입자 크기는 세 종류로 분류되었으며, $100 \mu\text{m}$ 보다 입자 크기가 작은 미생물부터 $200 \mu\text{m}$ 보다 입자 크기가 큰 미생물의 비율은 각각 43.3, 30.7, 25.9%를 나타내었다 (Fig. 8). 이와 함께 입자 크기에 따른 ANAMMOX와 AOB 미생물의 활성 분포는 뚜렷한 차이점을 나타내었다 (Fig. 9). ANAMMOX 미생물은 입상화로 인하여 입자 크기가 $200 \mu\text{m}$ 일 경우 활성도가 가장 높은 것으로 조사되었으며, AOB 미생물의 경우에는 $100\sim 200 \mu\text{m}$ 범위의 입자 크기에서 활성이 가장 높은 것으로 조사되었다. $200 \mu\text{m}$ 이상의 입자 크기에서 AOB 미생물의 활성이

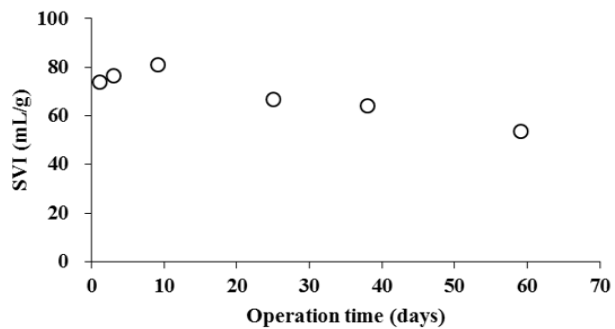


Fig. 7. Change of SVI value in the single-stage ANAMMOX reactor.

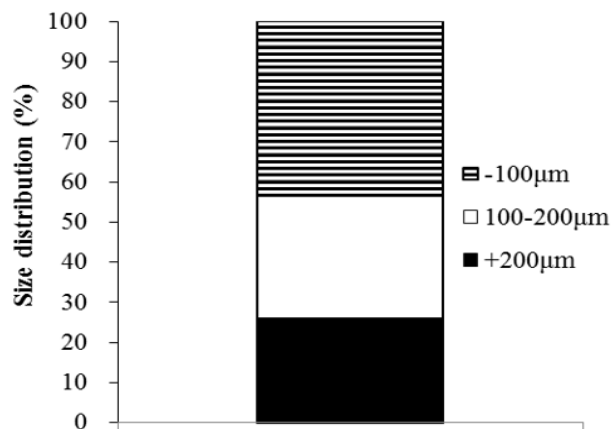


Fig. 8. The distribution of granule size at operation time of 40 days.

나타나는 이유는 ANAMMOX와 AOB가 단일 반응조에서 배양될 경우 ANAMMOX 입상슬러지 외곽에 AOB 층이 형성되는 것으로 설명될 수 있다 (Vlaeminck et al., 2010). Table 2에 나타낸 바와 같이 시간이 지남에 ANAMMOX 미생물의 비활성 속도는 급격하게 증가하는 것으로 나타났다(NOB 활성은 상기 제시된 운전 전략을 통하여 운전 기간 동안 효과적으로 저해되는 것으로 나타났음). 이처럼 $200 \mu\text{m}$ 이상의 입자 크기를 가진 ANAMMOX 입자는 AOB와 이중 구조를 형성함으로써, 호기 조건이 간헐적으로 형성되는 단일 반응조 시스템 내에서 효과적으로 순응한 것으로 판단된다. 반면, AOB미생물의 활성은 ANAMMOX 미생물에 비해 비교적 일정하였다. AOB대비 증가된 ANAMMOX미생물의 활성도는 SBR cycle에서의 호기 구간/무산소 구간 비에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 운전 초기 호기/무산소 비는 1.6이었으나 ANAMMOX 활성이 증가된 운전 65일 이후 그 비는 2.0으로 증가되었다.

pp. 371-379

pp. 381-388

pp. 389-398

pp. 399-409

pp. 411-419

pp. 421-434

pp. 435-443

pp. 445-451

pp. 453-460

pp. 461-470

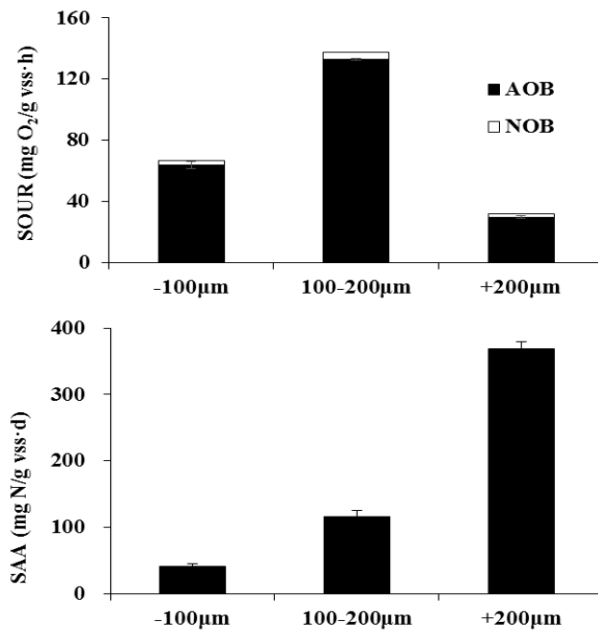


Fig. 9. The variations in specific activity for AOB and NOB at operation time of 40 days.

Table 2. Specific activity for ANAMMOX and AOB at initial and 40 days of operation time

Operation time	Initial	40 days
SAA* (mgN/gVSS/d)	127.2	274.9
SOUR** for AOB (mgO ₂ /gVSS/h)	77.4	93.9
SOUR** for NOB (mgO ₂ /gVSS/h)	2.6	4.4

활성 슬러지를 이용하여 AOB 및 ANAMMOX 미생물은 배양되었으며, 이를 이용하여 외부에서 공급되는 식중 슬러지 없이 고농도 질소를 함유하고 있는 반류수는 효과적으로 처리되었다. 본 연구를 통하여 국내 AOB 및 ANAMMOX 식중 슬러지 부족 문제를 해결할 수 있을 것으로 판단되며, 실 공정 규모에도 적용 가능할 것으로 판단된다.

4. 결론

하수처리장의 활성 슬러지를 식중미생물로 투입하여 AOB 및 ANAMMOX 미생물은 배양되었으며, 배양된 미생물을 24 m³ 규모의 단일 ANAMMOX 플랜트에 식중하여 실제 반류수 대상 질소 제거능은 평가되었다.

활성 슬러지내 ANAMMOX 미생물의 우점 정도에 따라 회분식 및 연속 배양 방식은 순차적으로 적용되었으며, 총 배양기간 153일 만에 질소 제거 속도 0.66 kg/m³/d은 달성되었다. AOB 미생물의 경우에는 NOB 활성을 효과적으로 저해시킴에 따라 배양 36일 만에 아질산염 전환율 0.22 kg/m³/d은 달성되었다. 이후 배양된 ANAMMOX와 AOB 미생물은 24 m³규모의 단일 반응조에서 혼합 배양되었고, 유입 질소 부하 0.56 kg/m³/d에서 0.49 kg/m³/d의 질소 제거 속도는 달성되었다.

국내 ANAMMOX 미생물을 이용한 연구뿐만 아니라 공정 상용화 과정이 선진국보다 더딘 이유는 ANAMMOX 식중 미생물의 확보에 어려움이 있었기 때문이다. 따라서 본 연구 결과는 ANAMMOX 식중 슬러지 부족문제를 해결함으로써 파일럿 규모의 공정을 성공적으로 운영한 국내 첫 사례라는 점에서 그 의미가 있으며, 이는 공정의 상용화 과정에서 큰 이점으로 작용될 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Arnold, E., Böhm, B. and Wilderer, P.A. (2000). Application of activated sludge and biofilm sequencing batch reactor technology to treat reject water from sludge dewatering systems: a comparison, *Water Sci. Technol.*, 41, 115-122.
- Chen, H., Liu, S., Yang, F., Xue, Y. and Wang, T. (2009). The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal, *Bioresour. Technol.*, 100, 1548-1554.
- Choi, D.H., Cho, S.H. and Jung, J.Y. (2018). Key operating parameters affecting nitrogen removal rate in single-stage deammonification, *Chemosphere*, 207, 357-364.
- Choi, Y.Y., Jung, S.Y. and Choi, J.W. (2011). Nonpoint Pollutants Sources Characteristics of Initial Surface Runoff on the Land Use Types, *J. Environ. Sci.*, 20, 417-426.
- Gao, J.L., Oloibiri, V., Chys, M., De Wandel, S., Decostere, B., Audenaert, W., He, Y.L. and Van Hulle, S.W.H. (2015). Integration of autotrophic nitrogen removal, ozonation and activated carbon filtration for treatment of landfill leachate, *Chem. Eng. J.*, 275, 281-287.
- Gong, L., Huo, M., Yang, Q., Li, J., Ma, B., Zhu, R., Wang, S. and Peng, Y. (2013). Performance of heterotrophic partial denitrification under feast-famine condition of electron



- donor: A case study using acetate as external carbon source, *Bioresour. Technol.*, 133, 263-269.
- Jeanningros, Y., Vlaeminck, S.E., Kaldate, A., Verstraete, W. and Gravelleau, L. (2010). Fast start-up of a pilot-scale deammonification sequencing batch reactor from an activated sludge inoculum, *Water Sci. Technol.*, 61, 1393-1400.
- Jetten, M.S.M., Wagner, M., Fuerst, J., van Loosdrecht, M., Kuenen, G. and Strous, M. (2001). Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 12, 283-288.
- Kargi, F. and Uygur, A. (2002). Nutrient removal performance of a sequencing batch reactor as a function of the sludge age, *Enzyme Microb. Technol.*, 31, 842-847.
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014). Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey, *Water Res.*, 55, 292-303.
- Liu, G. and Wang, J. (2017). Enhanced removal of total nitrogen and total phosphorus by applying intermittent aeration to the Modified Ludzack-Ettinger (MLE) process, *J. Clean. Prod.*, 166, 163-171.
- Ma, B., Wang, S., Cao, S., Miao, Y., Jia, F., Du, R. and Peng, Y. (2016). Biological nitrogen removal from sewage via anammox: Recent advances, *Bioresour. Technol.*, 200, 981-990.
- Ni, S.Q., Sun, N., Yang, H., Zhang, J. and Ngo, H.H. (2015). Distribution of extracellular polymeric substances in anammox granules and their important roles during anammox granulation, *Biochem. Eng. J.*, 101, 126-133.
- Patureau, D., Bernet, N., Bouchez, T., Dabert, P., Delgenes, J.P. and Moletta, R. (1998). Biological nitrogen removal in a single aerobic reactor by association of a nitrifying ecosystem to an aerobic denitrifier, *Microvirgula aerodenitrificans*, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 5, 435-439.
- Rongsayamanont, C., Limpiyakorn, T., Law, B. and Khan, E. (2010). Relationship between respirometric activity and community of entrapped nitrifying bacteria: Implications for partial nitrification, *Enzyme Microb. Technol.*, 46, 229-236.
- Rosén, B., Ullman, A. and Ragnarsson, N. (1998). Upgrading for nitrogen removal, using a combination of SBR (sequencing batch reactor) technique and unloading of existing biological stage, *Water Sci. Technol.*, 37, 17-24.
- Sipma, J., Osuna, B., Collado, N., Monclús, H., Ferrero, G., Comas, J. and Rodriguez-Roda, I. (2010). Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems, *Desalination*, 250, 653-659.
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. (1998). The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 50, 589-596.
- Strous, M., Van Gerven, E., Kuenen, J.G. and Jetten, M. (1997). Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) sludge, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 2446-8.
- Vadivelu, V.M., Keller, J. and Yuan, Z. (2007). Free ammonia and free nitrous acid inhibition on the anabolic and catabolic processes of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*, *Water Sci. Technol.*, 56, 89-97.
- Van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M. and Kuenen, J.G. (1996). Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor, *Microbiology*, 142, 2187-2196.
- Van der Star, W.R.L., Abma, W.R., Blommers, D., Mulder, J.W., Tokutomi, T., Strous, M., Picioreanu, C. and van Loosdrecht, M.C.M. (2007). Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam, *Water Res.*, 41, 4149-4163.
- Van Dongen, U., Jetten, M.S.M. and van Loosdrecht, M.C.M. (2001). The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater, *Water Sci. Technol.*, 44, 153-160.
- Van Loosdrecht, M.C.M. and Henze, M. (1999). Maintenance, endogeneous respiration, lysis, decay and predation, *Water Sci. Technol.*, 39, 107-117.
- Vlaeminck, S.E., Terada, A., Smets, B.F., De Clippeleir, H., Schaubroeck, T., Bolca, S., Demeestere, L., Mast, J., Boon, N. and Carballa, M. (2010). Aggregate size and architecture determine microbial activity balance for one-stage partial nitrification and anammox, *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 900-909.
- Wang, X.H., Wang, X., Huppes, G., Heijungs, R. and Ren, N.Q. (2015). Environmental implications of increasingly stringent sewage discharge standards in municipal wastewater treatment plants: case study of a cool area of China, *J. Clean. Prod.*, 94, 278-283.
- Wett, B., Rostek, R., Rauch, W. and Ingerle, K. (1998). pH-controlled reject-water-treatment, *Water Sci. Technol.*, 37, 165-172.