

하수처리장 Retrofit 공정의 현장적용성 평가 및 세균 군집 분포 연구

김미경[†] · 홍준혁^{**} · 김연권^{***} · 안태석^{****} · 신용배^{*}

한국건설기술연구원 건설환경연구부 · **국립환경연구원 수질총량관리센터 · ***한국수자원공사 국제상하수도연구소
****강원대학교 환경과학과 · *지역환경기술개발센터연합회

(2005년 10월 28일 접수, 2006년 2월 16일 채택)

Evaluation of Field Application for the Developed Retrofitting Process and Analysis of Bacterial Community Structure in Pilot Plant

Mee-Kyung Kim[†] · Jun-Hyeok Hong^{**} · Youn-Kwon Kim^{***} · Tae-Seok Ahn^{****} · Eung-Bai Shin^{*}

Department of Construction Environment Research, Korea Institute of Construction Technology

**Watershed Management Research Center, National Institute of Environmental Research

***International Water Research Center, Korea Water Resources Corporation

****Department of Environmental Science, Kangwon National University · *Council of Regional Environmental Centers

ABSTRACT : In this study, a retrofitting BNR process that was modified for the economical applicability was proposed and evaluated in the pilot plant(50 m³/d). At the same time the bacterial community structure was investigated in the pilot plant by using FISH(fluorescent in situ hybridization) method. Economically 16% of the initial construction cost for the proposed process(introduction of a biological nutrient removal process of 60,000 m³/d scale basis) was reduced due to the absence of a bioreactor. Water treatment efficiencies and maintenance facilities of the modified process were satisfied with the strengthened discharge permits in Korea throughout a long term pilot plant operating including a winter season. Bacterial populations in the pilot plant and in the control plant(A2/O process, B STP(Sewage Treatment Plant)) were remained uniformly during the test period, but bacterial structure in the bioreactor was changed drastically. Proportions of β -proteobacteria group including soil bacteria which play a important role in wastewater treatment increased 25~607% in population.

Key Words : Advanced Wastewater Treatment, Bacterial Community Structure, FISH Method, Retrofit, Soil Microorganism

요약 : 본 연구에서는 선행연구를 통하여 개발된 고도처리 공정의 현장적용을 용이하게 하기 위하여 이를 개조한 retrofitting 공정을 제안하였으며, 제안된 공정을 50 m³/일 규모의 pilot plant 운영을 통하여 현장 평가를 하였다. 또한 pilot plant 내에서 미생물의 배양 상태를 확인하기 위하여 FISH 법을 이용하여 세균 군집구조를 조사하였다. 제안된 retrofitting 공정은 배양조를 별도로 건설하지 않음으로써 16%(60,000 m³/일 규모 고도처리시설 도입 기준)의 초기건설비를 절감할 수 있는 것으로 평가되었으며, 동질기를 포함한 장기간의 pilot plant 운영을 통하여 수처리 효율과 유지관리 측면에서 현장적용성이 우수한 것으로 사료되며 방류수질 기준을 만족하는 것으로 평가되었다. 또한 pilot plant와 대조군(A2/O 공정, B 하수처리장)에서 총세균수는 큰 차이가 없으나, pilot plant의 bioreactor에 의해서 세균 군집 변화가 다르게 나타났다. 우점종은 주로 하수처리에서 중요한 역할을 하는 토양 미생물이 속한 β -proteobacteria group이고, bioreactor 유출수에서 유입수 대비 25~607% 증가하는 것으로 확인되었으며, 이렇게 증가된 β -group의 미생물은 시스템 내에서 일정 농도를 유지하는 것으로 확인되었다.

주제어 : 고도처리, 세균 군집구조, FISH법, 시설개량, 토양미생물

1. 서론

2004년 말 현재 국내 총 268개의 하수처리장(시설용량 총 21,535 백만톤/일)이 가동 중에 있으며, 이 중 고도처리공법을 도입하여 운영 중인 하수처리장은 지속적으로 증가하여 총 111개소(시설용량 총 6,867 백만톤/일)로서 하수발생량의 약 32%가 고도처리되고 있다.¹⁾

고도처리시설의 도입은 운전개선방식(Renovation)과 시설 개량방식(Retrofitting)으로 구별될 수 있다.²⁾ 운전개선방식은 기존의 2차 처리시설에서 폭기방식의 개선 등 일부 운전 방식의 개선과 설비를 보완하여 강화되는 방류수질기준의 준수가 가능하다고 판단될 때 채택되며, 시설개량방식은 기존 시설이 운전개선방식으로는 수질기준의 준수가 불가능하다고 판단될 때 처리공법을 변경하여 설치하는 방식이다. 고도처리시설의 도입은 기존의 공정을 최대한 활용하여 경제성과 함께 수질기준을 만족시킬 수 있도록 체계적이고 합리적인 대안을 찾는 노력이 선행되어야 한다.

본 연구에서는 신 등³⁾의 선행연구를 통하여 개발 완료된

[†] Corresponding author
E-mail: mkkim@kict.re.kr
Tel: 031-910-0617

Fax: 031-910-0291

Table 1. Cost saving effect for initial construction and maintenance for a bioreactor

		Details	Curtailment of Expenditure
Bioreactor	Construction	- construction cost	₩394,474,550
	Machinery	- submerged mixer	₩214,240,000
		- diffuser - blower	₩64,912,000 ₩28,469,550
Maintenance	- mixer for a bioreactor(3.0 kW) 16 × 3.0 kW × 8 hr/d × 50 won/kWh × 365 days = ₩7,008,000 - blower for a bioreactor(30 kW) 30 kW × 16 hr/d × 50 won/kWh × 365 days = ₩8,760,000		₩15,768,000 yr
Total construction cost		Total construction cost for a sewage treatment plant retrofitting (60,000 m ³ /day)	₩4,449,733,500
Cost saving effects		- 16% curtailment of total construction cost - ₩15,768,000 yr cost reduction for a bioreactor maintenance	

토양미생물을 이용한 혐기-간헐포기방식의 고도처리공정(HBR-II Process)을 기존 시설에 도입 시 경제성을 높이기 위하여 개량하였다. 즉, 2차 처리시설의 고도처리 전환 시 토양미생물을 배양하기 위하여 별도로 건설되던 배양조는 비용과 부지가 추가로 소모되고 체류시간을 증가시키는 문제를 초래하였다. 이를 해결하기 위하여 배양조를 별도로 두지 않고, 주 반응조(혐기조/간헐포기조) 구조 내에 배양기를 설치하여 main-stream 내에서 배양이 이루어지도록 개량하였다.

경제적인 측면에서 본 연구를 통해 제안된 공정은 배양조 건설에 따른 추가비용 및 배양조 설비(수중믹서, 산기관 등), 유지관리비 등을 절감할 수 있을 것으로 기대된다. 기존의 공정에서 배양조가 차지하는 용적은 약 10% 정도이고, 최종침전지에서 별도의 반응배관과 blower, mixer등의 장치가 추가되므로, 배양조가 없어진다면 10~15% 정도의 초기건설비가 절감 될 수 있을 것이다. 실제로 Table 1에서 보는 바와 같이 2002년 말 현재 60,000 m³/일 규모의 고도처리 시설 도입 시 16%의 건설비를 절감할 수 있는 것으로 산정되었고, 여기에 부지 절감효과를 경제적으로 환산한다면 그 효과는 더 늘어날 것으로 사료된다.

본 연구에서는 제안된 공정을 경기도에 위치한 A 하수처

리장에 50 m³/일 규모의 pilot plant를 설치·운전하여 현장 적용성과 하수처리 효율을 평가하였으며, main-stream 내에 투여된 배양기에 의한 미생물의 배양 상태를 확인하기 위하여 미생물 군집 구조를 조사하였다. 미생물 군집 분석은 FISH (Fluorescent in Situ Hybridization)법을 사용하여 시스템 내에서 *Bacillus* 속과 세균군집을 α -, β -, γ -proteobacteria, *Cytophaga-Flavobacterium* group으로 나누어 그 비율과 절대값의 변화를 파악하여 공정 내에서 미생물 군집구조의 변화를 파악하였다.

2. 실험 방법

2.1. Pilot plant 시설 및 운전조건

본 연구를 통하여 개발된 공정은 lab-scale 반응기의 운영을 통하여 적정 설계인자를 도출 한 후, 50 m³/d 규모의 pilot plant를 설계하여 Fig 1과 같이 A 하수처리장에 설치하였다. 2002년 7월부터 pilot plant의 운영을 시작하여 최적 운전인자를 도출하였고, 본 논문에서는 Table 2와 같은 운전조건 하에서 2003년 7월부터 2004년 8월까지 동절기를 포함한 운전 자료를 평가 대상으로 하였다.

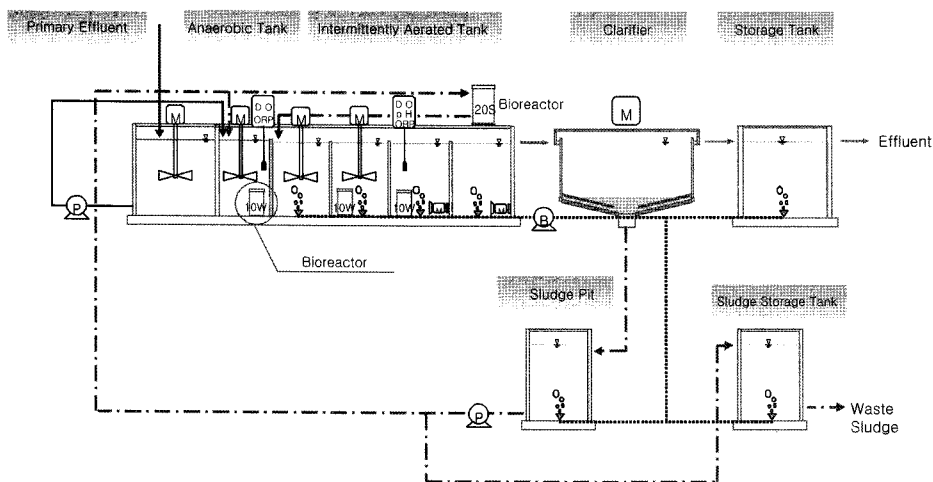


Fig. 1. Schematic diagram of the retrofitting process.

Table 2. Operating parameters of the pilot plant

		Spring/Summer/Autumn	Winter(Dec. ~ Feb.)
Influent	Temperature(°C)	20.4(14.0 ~ 24.8)	12.7(7.0 ~ 13.1)
	pH	7.0(6.8 ~ 7.1)	7.0(6.8 ~ 7.2)
	C/N ratio (BOD/TKN)	5.5(3.4 ~ 10.3)	4.3(2.9 ~ 5.1)
Anaerobic Tank	HRT(hr)	0.96(0.93 ~ 1.03)	0.98(0.95 ~ 1.00)
	ORP(mV)	-251(-422 ~ -105)	-182(-437 ~ -71)
	MLSS(mg/L)	2,215(1,812 ~ 2,616)	2,239(1,698 ~ 2,572)
	PRR(mgPO ₄ -P/L/hr)	6.13(1.24 ~ 11.09)	8.08(6.92 ~ 9.99)
	SPRR(mgPO ₄ -P/gVSS/hr)	3.31(0.74 ~ 5.83)	4.39(3.42 ~ 5.10)
Intermittently Aerated Tank (#1)	HRT(hr)	1.11(1.07 ~ 1.19)	1.13(1.10 ~ 1.16)
	ORP(mV)	-24(-140 ~ 116)	119(42 ~ 152)
	DO(mg/L)	3.5(1.5 ~ 5.4)	2.2(0.6 ~ 3.3)
	Air On/Off(min)	40/20	50/10
	MLSS(mg/L)	2,085(1,632 ~ 2,726)	2,038(1,586 ~ 2,356)
	PUR(mgPO ₄ -P/L/hr)	4.21(0.07 ~ 9.47)	6.18(4.93 ~ 7.05)
	AUR(mgNH ₄ -N/L/hr)	3.04(0.21 ~ 6.64)	2.00(1.51 ~ 3.00)
	NUR(mgNO ₃ -N/L/hr)	1.66(0 ~ 3.87)	1.78(1.08 ~ 2.98)
	SPUR(mgPO ₄ -P/gMLVSS/hr)	2.48(0.04 ~ 5.92)	3.55(2.98 ~ 3.92)
	SNR(mgNH ₃ -N/gMLVSS/hr)	1.85(0.09 ~ 4.15)	1.16(0.84 ~ 1.84)
SDNR(mgNO ₃ -N/gMLVSS/hr)	1.00(0 ~ 2.42)	1.03(0.66 ~ 1.83)	
Intermittently Aerated Tank (#2)	HRT(hr)	1.1	1.1
	ORP(mV)	-11(-66 ~ 37)	168(58 ~ 240)
	DO(mg/L)	3.0(1.7 ~ 4.3)	2.7(1.4 ~ 3.7)
	Air On/Off(min)	40/20	50/10
	MLSS(mg/L)	2,256(1,766 ~ 2,706)	2,087(1,898 ~ 2,396)
	PUR(mgPO ₄ -P/L/hr)	2.14(0.02 ~ 4.81)	1.83(0.82 ~ 2.76)
	AUR(mgNH ₄ -N/L/hr)	2.52(0 ~ 4.79)	1.00(0 ~ 1.69)
	NUR(mgNO ₃ -N/L/hr)	0.92(0 ~ 2.12)	0.68(0 ~ 1.53)
	SPUR(mgPO ₄ -P/gMLVSS/hr)	1.04(0 ~ 2.42)	1.05(0.51 ~ 1.50)
	SNR(mgNH ₃ -N/gMLVSS/hr)	1.36(0 ~ 2.58)	0.57(0 ~ 1.05)
SDNR(mgNO ₃ -N/gMLVSS/hr)	0.50(0 ~ 1.21)	0.38(0 ~ 0.79)	
Intermittently Aerated Tank (#3)	HRT(hr)	1.4(1.4 ~ 1.5)	1.5(1.4 ~ 1.5)
	ORP(mV)	-5(-111 ~ 40)	174(33 ~ 238)
	DO(mg/L)	3.5(2.2 ~ 5.8)	2.6(1.3 ~ 3.9)
	Air On/Off(min)	40/20	50/10
	MLSS(mg/L)	2,320(1,866 ~ 2,764)	2,174(1,776 ~ 2,664)
	PUR(mgPO ₄ -P/L/hr)	0.17(0.02 ~ 0.53)	0.04(0.01 ~ 0.07)
	AUR(mgNH ₄ -N/L/hr)	1.56(0.42 ~ 3.27)	0.71(0 ~ 2.07)
	NUR(mgNO ₃ -N/L/hr)	0.69(0 ~ 1.86)	0.25(0 ~ 1.25)
	SPUR(mgPO ₄ -P/gMLVSS/hr)	0.08(0 ~ 0.33)	0.01(0 ~ 0.04)
	SNR(mgNH ₃ -N/gMLVSS/hr)	0.83(0.24 ~ 1.85)	0.37(0 ~ 1.02)
SDNR(mgNO ₃ -N/gMLVSS/hr)	0.36(0 ~ 1.05)	0.12(0 ~ 0.62)	
Intermittently Aerated Tank (#4)	HRT(hr)	1.4(1.4 ~ 1.5)	1.5(1.4 ~ 1.5)
	ORP(mV)	-30(-109 ~ 42)	133(-6 ~ 170)
	DO(mg/L)	0.7(0.2 ~ 2.2)	0.4(0.2 ~ 0.7)
	Air On/Off(min)	40/20	50/10
	MLSS(mg/L)	2,203(1,502 ~ 2,604)	2,187(1,714 ~ 2,738)
	PUR(mgPO ₄ -P/L/hr)	0.29(0.01 ~ 1.06)	0.01(0.001 ~ 0.01)
	AUR(mgNH ₄ -N/L/hr)	0.16(0 ~ 1.64)	0.18(0 ~ 0.91)
	NUR(mgNO ₃ -N/L/hr)	0.10(0 ~ 1.00)	0.02(0 ~ 0.08)
	SPUR(mgPO ₄ -P/gMLVSS/hr)	0.09(0 ~ 0.54)	0.003(0 ~ 0.01)
	SNR(mgNH ₃ -N/gMLVSS/hr)	0.08(0 ~ 0.85)	0.10(0 ~ 0.50)
SDNR(mgNO ₃ -N/gMLVSS/hr)	0.05(0 ~ 0.51)	0.01(0 ~ 0.04)	
Clarifier	Sludge Recycle(%)	65.9(57.6 ~ 73.9)	57.1(55.4 ~ 59.1)
The others	F/M ratio(kgBOD/kgSS · d)	0.293(0.222 ~ 0.412)	0.212(0.128 ~ 0.284)
	BOD loading(kgBOD/m ³ · d)	0.644(0.463 ~ 0.991)	0.454(0.317 ~ 0.603)
	SRT(d)	10.97(6.77 ~ 14.64)	6.98(5.17 ~ 9.66)

유입수로는 A 하수처리장 일차침전지 유출수를 사용하였으며, 유량변동에 따른 수리부하를 최소화하고 유입부하의 변동에 완충역할을 위한 유량조절조가 설치되었다. 간헐포기조는 격벽으로 총 4조로 나뉘어 있으며 운전조건은 모두 동일하다. Bioreactor는 각각 혐기조와 간헐포기 2, 3조에 투입되어 있으며 신 등⁴⁾의 연구에서와 같이 토양미생물의 배양을 위한 pellet이 각각 1.2 kg씩 충전되어 있다. 또한 side-stream에서 미생물의 배양을 증진시키기 위하여 pellet을 2.4 kg 충전한 약 30 L의 지상형 bioreactor를 설치하여 반송슬러지를 4~8시간 배양 후 혐기조와 간헐포기조 앞단으로 1:1의 비율로 이송하도록 하였다.

2.2. 세균 군집 조사

① 조사지점 및 시기

조사지점은 경기도 A 하수처리장에 설치된 고도처리 pilot plant의 유입수, 간헐포기2조, 간헐포기3조, 지상형 bioreactor 유입수와 유출수, 최종 유출수에서 시료를 채취하였고, 지상형 bioreactor는 체류시간을 고려하여 14시와 22시 하루에 두 차례씩 채취하였으며, 1차 조사는 2004년 2월 27일, 2차 조사는 5월 17일, 3차 조사는 7월 14일의 3회에 걸쳐 실시하였다. 또한 대조군으로는 A2/O 공법이 적용된 경기도 B 하수종말처리장을 선정하였으며, 시료 채취는 실험군과 같은 시기에 3회에 걸쳐 유입수, 유출수, 혐기조, 무산소조, 포기조 등에서 각각 채취하였다.

② 시료 채취 및 보관

시료는 2 set씩 채취하여 현장에서 1 set는 FISH 분석을 위해 4% paraformaldehyde 용액으로 고정하였으며, 다른 1 set는 총세균수, 포자 분석을 위하여 중성 formalin(최종농도 2%)으로 고정하여 실험실로 운반하였다. 실험실로 운반된 시료는 곧바로 flocc에 붙어 있는 세균을 균질하게 만들기 위하여 Tween 80 0.2%를 넣어 잘 흔든 후, 20분간 초음파처리(28 KHz, 400 W)하여 유기물 등으로부터 세균을 분리하고 20~25분간 방치한 후, 상등액을 취하여 총세균수, FISH 및 포자 계수를 위한 실험 재료로 사용하였다.

③ AODC(Acridine Orange Direct Counting)

본 실험에 들어가기 전에 시료 내 세균수를 파악하기 위하여 Acridine Orange로 먼저 염색한 후 시료의 세균 수를 파악하고, 시료의 여과량을 결정하였다. 시료 전처리 후, 총세균수 측정을 위하여 고정된 시료를 sudan black으로 염색된 polycarbonate membrane filter(Nucleopore, pore size 0.2 μm, φ 25 mm)에 여과한 후, Acridine Orange(C₁₇H₂OCl₃N₃Zn, Merck; 최종농도 0.01%)로 염색하여 형광현미경으로 검경(배율, ×1000)하였다.⁵⁾ 총세균수는 20개의 화상에서 얻은 균체수를 평균으로 하여 계산하였다. 이 결과에서 시료에 존재하는 세균의 개체수를 파악하여 FISH등 분석에 필요한 시료량을 결정하였다.

④ DAPI 염색과 계수

DAPI(4'-6-diamidino-2-phenylindole-2HCl, SIGMA)에 의한 세균수의 측정은 FISH 방법을 적용한 후 DAPI로 2차 염색

하여 계수하였다. 세균의 계수는 형광 현미경(Olympus BX60, Exciting filter: U, Lamp: Mercury lamp HBO 100W/2, OSRAM)을 이용하여 DAPI로 염색된 세균과 probe가 결합한 세균을 계수하였다. 각 세균수는 20개 이상의 화상에서 평균값을 구하였다.

⑤ FISH법에 의한 Bacillus의 검출 및 계수

본 연구에서는 Bacillus 속 검출 효율이 95% 이상인 tetramethyl-rhodamine으로 표지한 S-G-Bacill-0597-a-A-22를 probe로 사용하였다. 세포의 고정 및 전처리 과정은 홍 등⁶⁾의 방법을 따랐으며, Bacillus FISH 관찰을 위한 전처리 과정으로 10분간 37℃에서 lysozyme을 처리하였다.

⑥ Bacillus 포자(spore) 분석

시료를 슬라이드에 유첨하고 건조시킨 후, 열고정하여 도말 부위를 여과지로 덮고 아포를 염색하기 위하여 malachite green(5%)용액을 충분히 가하고 5분간 가열한 후, ethanol로 세척하고 counter stain을 하기 위하여 safranin O(2.5%)로 30초간 염색한 후, 다시 3차 증류수로 세척하고 현미경(×1000)으로 포자를 계수하였다.

⑦ FISH법에 의한 세균 군집 구조 분석

Parafilm으로 포장된 slide glass에 전처리 과정을 거친 filter를 올려놓은 후, 16 μL의 hybridization solution을 첨가한 후 2 μL의 probe를 첨가하였다.⁷⁾ 두 용액을 잘 섞은 후, hybridization chamber에 넣고 배양하였다. 배양 후 미리 예열된 세척용액에 filter를 담근 후, 약 20분 동안 세척하고 꺼내는 즉시 차가운 3차 멸균 증류수로 헹군 뒤 공기 중에서 건조시켰다. 특히 β-γ-group은 서로 간섭하므로, β-group을 측정할 때는 non-labeled GAM42a 2 μL를 함께 사용하였고, γ-group을 측정할 때는 non-labeled BET42a 2 μL를 함께 사용하여 간섭을 배제하는 방법을 사용하였다.⁸⁾

3. 결과 및 고찰

3.1. Pilot plant 운전결과

3.1.1. 수질분석 결과

실험기간동안 분석된 유입·유출수질을 Table 3에 나타내었으며 수질항목별 운전 결과는 Fig. 2와 같다. 본 연구에서 수질 데이터의 분석은 확률도표(probability plot)를 이용하였으며 중앙값(P = 50%)을 추정하여 산술평균을 대신하였다.

Table 3. Characteristics of influent and effluent wastewater (2003.7-2004.3)

	Influent	Effluent
BOD(mg/L)	105* (75~256)**	8.7 (6.0~16.3)
COD _{Mn} (mg/L)	47 (23~117)	8.0 (5.2~13.6)
COD _C (mg/L)	175 (58~260)	19.5 (8.1~31.3)
T-N(mg/L)	31 (20~45.8)	8.0 (2.6~20.2)
T-P(mg/L)	2.6 (1.5~4.7)	0.3 (0.1~0.8)
SS(mg/L)	63 (8.8~132)	6.3 (2.5~17.2)

* : average, ** : min~max

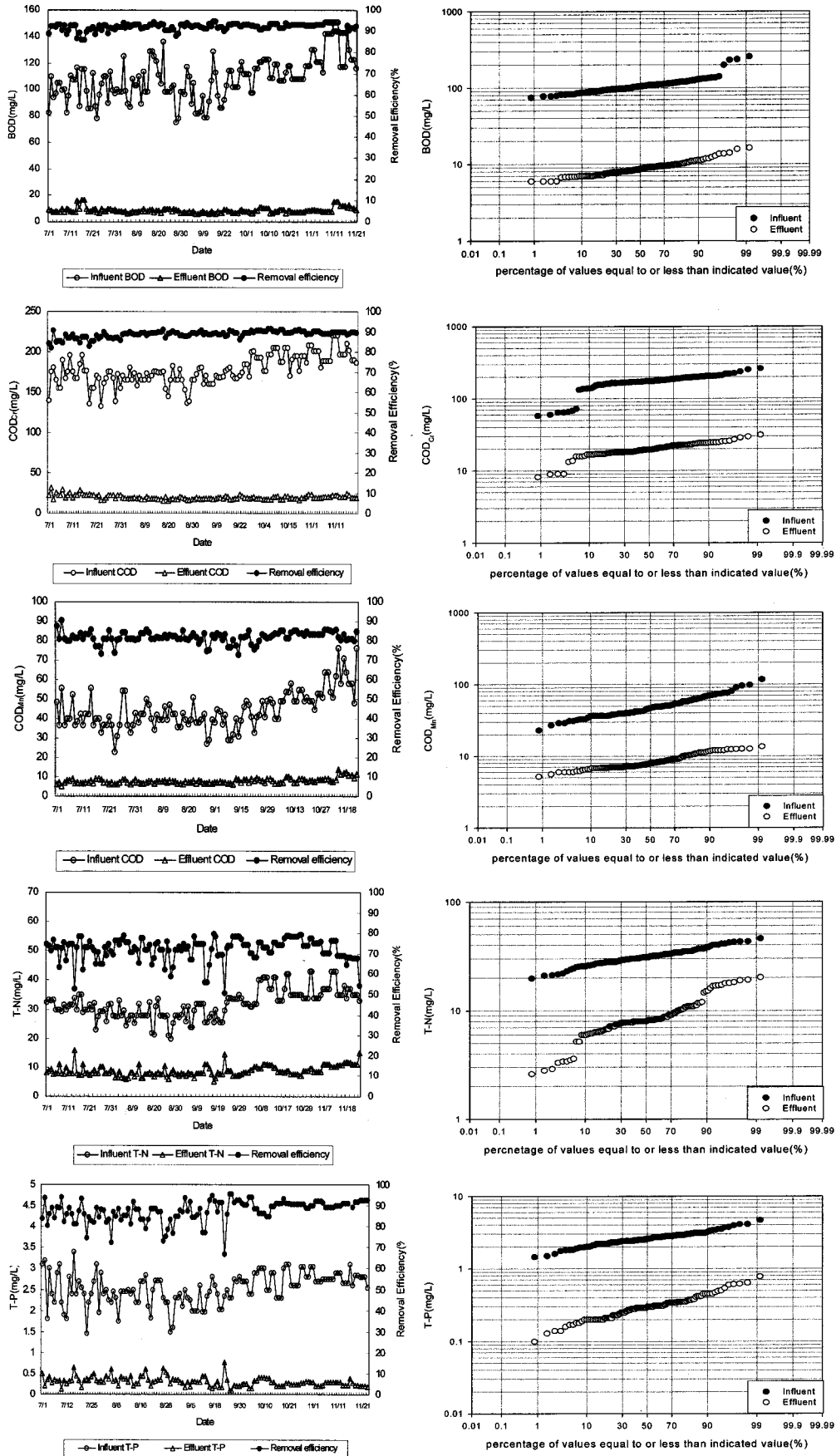


Fig. 2. Chronological profiles and probability plots of influent and effluent wastewater.

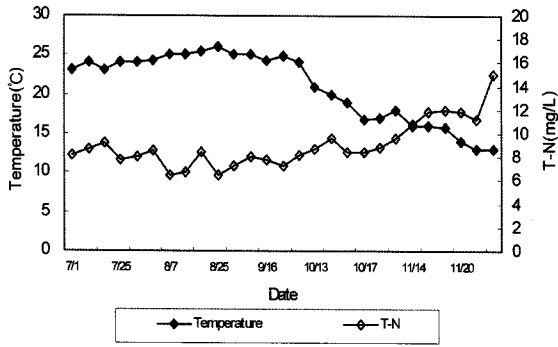


Fig. 3. Relationship between nitrogen removal and temperature.

본 공정의 전체적인 유기물 제거능력은 BOD₅와 COD_{Cr}이 평균 105 mg/L, 175 mg/L로 유입되고, 8.7 mg/L, 19.5 mg/L로 방류되어, 처리효율은 각각 91.7, 88.9%로 평가되었으며 계절에 관계없이 비교적 안정적인 처리효율을 나타내었다. 또한 유입수에 존재하는 용존성 유기물(SBOD)은 혐기조에서 89.1%가 제거되었으며, 유출수내 포함되어 있는 유기물농도를 감안한다면 유입되는 총 용존성 유기물의 93%가 혐기조에서 제거됨을 알 수 있었다. 이는 신 등³⁾의 연구에서와 같은 경향을 나타내고 있다. 또한 질소와 인의 평균 제거율은 각각 74.1%와 88.5%로 평가되었다. 질소 제거는 Fig. 3과 같이 온도에 따른 영향을 많이 받고 있으므로 겨울철의 경우, 폭기/비폭기 시간의 조절을 통해 간헐폭기조에서의 질산화 시간을 증가시켜 운전하였다.

동절기를 포함한 장기간의 pilot plant 운전을 통하여 제안된 공정의 현장적용성은 수처리 효율과 유지관리 측면에서 우수한 것으로 사료되며 방류수질 기준을 대체적으로 만족하는 것으로 평가되었다.

3.1.2. Pilot plant 운전인자 분석결과

Fig. 4는 운전기간 동안 각 반응조별 ORP, pH, DO, 수온의 변화를 보여주고 있다. 약 6개월 동안 수온은 동절기에서 하절기로 가면서 11°C에서 25°C까지 상승했고, DO는 혐기조에서 평균 0.04(0.01~0.10), 간헐폭기 1조 평균 3.08(0.62~5.40), 간헐폭기 2조 2.85(1.37~4.34), 간헐폭기 3조 평균 3.11(1.34~5.80), 간헐폭기 4조 0.54(0.17~2.22) mg/L로 조사되었다.

또한 운전기간 동안 각 반응조의 평균 pH는 6.7~7.2의 범위에서 운전되었다. ORP는 혐기조 -228(-437~-71), 간헐폭기 1조 23(-140~152), 간헐폭기 2조 73(-66~240), 간헐폭기 3조 78(-111~238), 간헐폭기 4조 46(-109~170)mV로 운전되어 각 반응단계별 기전을 확인할 수 있었다.

3.2. 세균 군집 조사

3.2.1. 총세균수

AODC를 이용하여 A 하수처리장의 pilot plant와 대조군으로 지정한 B 하수처리장의 각 반응조의 총세균수를 측정된 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

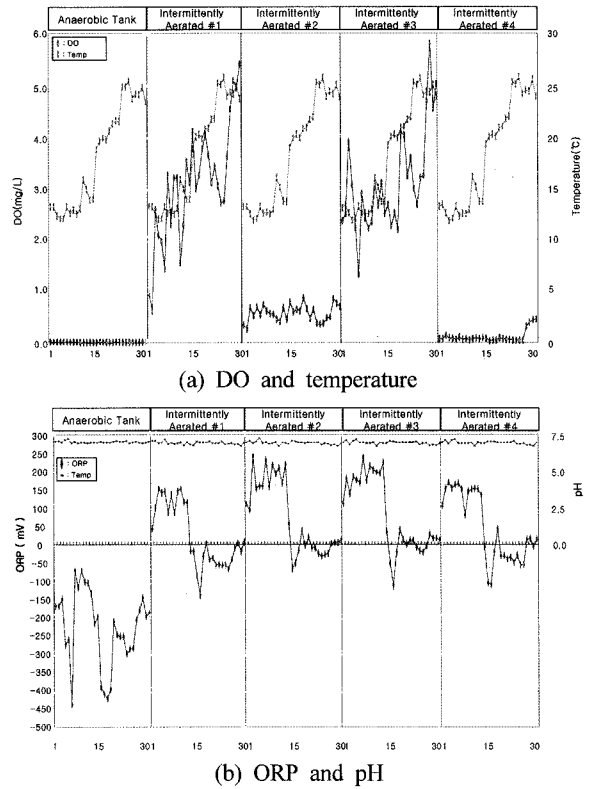


Fig. 4. Profile of DO, temperature, ORP and pH.

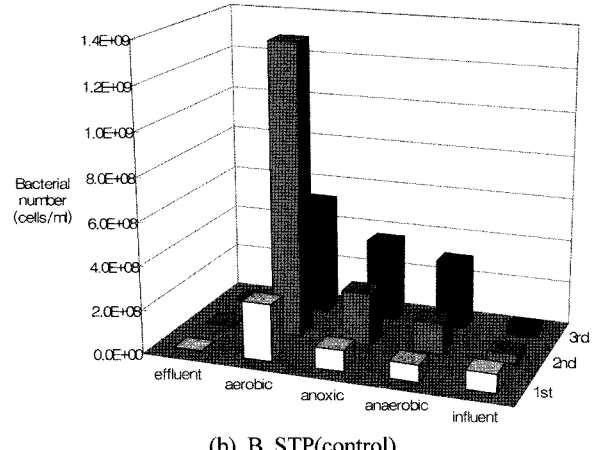
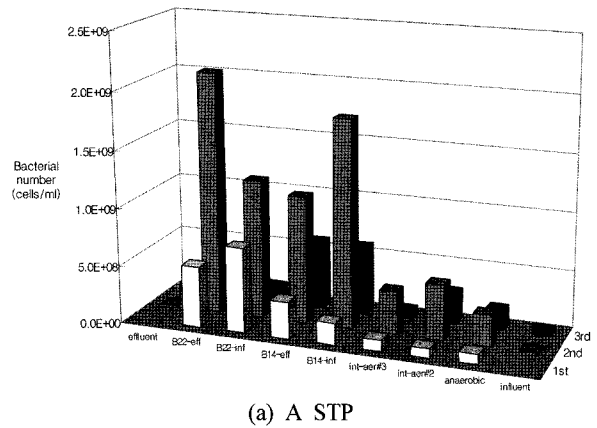


Fig. 5. Total bacterial number.

Pilot plant의 1차 분석에서 각 반응조의 총세균수는 혐기조와 간헐포기조에서는 $7.8 \sim 9.7 \times 10^7$ cells/mL로 큰 차이를 보이지 않았으며, 지상형 bioreactor(14시)의 유입수 내에 포함되어 있는 총 세균수가 1.9×10^8 cells/mL에서 8시간 후의 유출수 내에는 5.3×10^8 cells/mL로 나타나 약 2.8배가 증가한 것으로 나타났다. 2차 분석결과에서는 지상형 bioreactor에서의 미생물수가 시스템의 다른 반응단계에 비해 약 10배가량 높은 것으로 평가되었다. 대조군으로서 B 하수처리장의 분석결과는 총세균수의 경우, pilot plant에서와 비슷한 범위의 값을 보이는 것으로 나타났으며, 1차 분석 시 혐기조와 포기조 총세균수가 $7.8 \sim 26 \times 10^7$ cells/mL로 조사되었다.

즉, 3차례의 분석결과, pilot plant와 대조군의 실험에서 총세균수는 큰 차이가 없이 동일한 경향을 보이는 것으로 평가할 수 있고, bioreactor에서 총세균수가 다른 반응조에 비해 높게 나타났으며 특히, 8시간의 체류시간 동안 미생물수의 증가를 확인할 수 있었다.

3.2.2. 세균 군집구조 조사

Pilot plant의 세균 군집 조사 결과, 암모니아를 분해하는 *Nitrosomonas sp.*, 아민을 분해하는 *Pseudomonas sp.*, 황화수소를 분해하는 *Thiobacillus sp.* 및 *Zoogloea sp.*와 *Sphaerotilus sp.* 등 활성슬러지 내에 흔히 존재하는 것으로 알려져 있는 미생물들이 속해있는 β-proteobacteria group이 모든 반응조에서 우점하는 반면 *Cytophaga-Flavobacterium* group은 대체로 낮게 조사되었다.

Fig. 6에서 보는 바와 같이 1차 조사에서, bioreactor 유입수 내의 β-proteobacteria의 개체수가 6.7×10^7 cells/mL, Eubacteria 중 차지하는 비율이 43.6%였으며, 8시간 배양 후 bioreactor 유출수에서는 2.4×10^8 cells/mL, 54.8%로 개체수와 비율이 모두 증가한 것으로 평가되었다. α-group도 bioreactor 유입수에서는 1.0×10^7 cells/mL, 6.6%이었으나, 8시간 배양 후 유출수에서는 1.2×10^8 cells/mL, 28.1%로 개체수와 비율이 모두 증가한 것으로 나타났다. 반면 γ-proteobacteria, *Cytophaga-Flavobacterium*와 ‘others’(Eubacteria 중 α-, β-, γ-group 및 CF-group에 속하지 않는 것들)는 개체수의 큰 변화가 없었다. 이는 bioreactor에서 배양되면서 증가하는 group이 α-와 β-proteobacteria group이라는 것을 증명하고 있다.

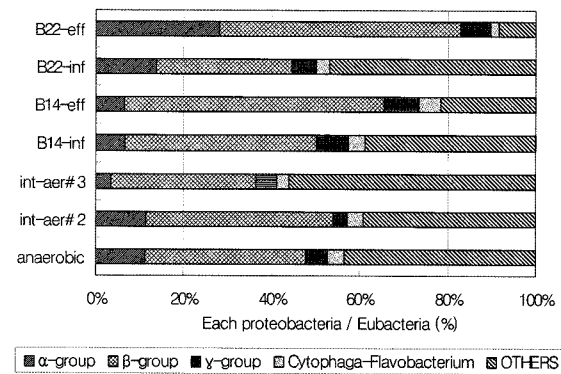


Fig. 6. Eubacterial colony(1st, A STP).

Table 4. Bacterial distribution(1st, A STP)

	ALF (α-group)	BET (β-group)	GAM (γ-group)	CF (<i>Cytophaga-Flavobacterium</i>)	OTHERS	EUB (Eubacteria)
B22-effluent	1.2E+08* (28.1)**	2.4E+08 (54.8)	3.0E+07 (6.7)	8.5E+06 (1.9)	3.7E+07 (8.4)	4.4E+08
B22-influent	7.9E+07 (13.7)	1.8E+08 (30.8)	3.3E+07 (5.6)	1.7E+07 (2.9)	2.7E+08 (47.0)	5.8E+08
B14-effluent	1.9E+07 (6.3)	1.7E+08 (59.1)	2.3E+07 (8.0)	1.4E+07 (4.9)	6.4E+07 (21.7)	2.9E+08
B14-influent	1.0E+07 (6.6)	6.7E+07 (43.6)	1.1E+07 (7.1)	5.9E+06 (3.9)	5.9E+07 (38.9)	1.5E+08
intermittently aerated tank #3	3.0E+06 (3.3)	3.0E+07 (33.0)	4.2E+06 (4.6)	2.5E+06 (2.8)	5.1E+07 (56.1)	9.0E+07
intermittently aerated tank #2	8.6E+06 (11.4)	3.2E+07 (42.5)	2.5E+06 (3.3)	2.7E+06 (3.5)	2.9E+07 (39.3)	7.5E+07
anaerobic	9.3E+06 (11.1)	3.1E+07 (36.8)	4.0E+06 (4.8)	3.2E+06 (3.8)	3.6E+07 (43.6)	8.4E+07

* : Absolute value(cells/mL), ** : percentage(%)

혐기조와 간헐포기조의 총세균수는 $7.8 \sim 8.6 \times 10^8$ cells/mL 범위였으며, β-group과 ‘others’ group이 비율과 개체수 모두 우점하고 있었다. 이는 bioreactor에서 증가한 β-group이 시스템 내에서 지속적으로 우점하기 때문으로 사료된다.

Pilot plant 2차 조사에서 미생물의 군집구조는, bioreactor의 유입수와 유출수에서의 β-proteobacteria의 개체수와 비율이 각각 5.8×10^7 cells/mL, 4.6%와 4.1×10^8 cells/mL, 54.8%로서 모두 증가하였다. 이는 bioreactor 안에서 세균수가 증가하며, 그 증가분 중 상당 부분이 β-group이고, β-group은 시스템 내에서 일정하게 유지되고 있는 것으로 판단된다. 또한 유입수의 영향에 의한 미생물 군집구조의 차이를 알아보기 위하여 pilot plant의 유입수와 유출수를 추가로 조사한 결과, Fig. 7과 Table 5에서 보듯 유입수와 시스템 내의 미생물 군집구조는 완전히 다른 것으로 나타났다. 즉, 유입수에는 ‘others’와 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점하고 α-, β-, γ-proteobacteria group이 6% 미만인 반면, 시스템 내에서는 β-group이 늘어나고 CF-group이 감소하고 있었다. 이는 개체수가 늘어난 것을 감안한다면 처리장 내에서 증식되는 미생물은 주로 β-group임을 의미한다.

대조군인 B 하수처리장의 미생물 군집 구조는 포기조에서 무려 98%가 ‘others’로 분류되었고, α-, β-, γ-proteobacteria group과 CF group이 1% 미만으로 나타났다. 시스템 내에서 각 군집의 개체수 범위를 보면, α-group은 $4.4 \sim 42 \times 10^6$ cells/mL, β-group은 $4.2 \sim 11 \times 10^6$ cells/mL, γ-group은 $0.5 \sim 11 \times 10^6$ cells/mL의 값을 보이며, ‘others’ group은 $7.0 \sim 110 \times 10^7$ cells/mL로 나타나 α-와 β-group의 변화범위가 적었다. 일반적으로 하수처리장에는 Gram(-)에 속하는 proteobacteria 외에 수많은 종류의 Gram(+)군도 관여하는데, 이들의 대부분이 ‘others’ group으로 분류된다. 즉, 대조군의 경우 포기조에서의 미생물의 증가는 ‘others’ group의 증가에 의한 것이라 사료된다.

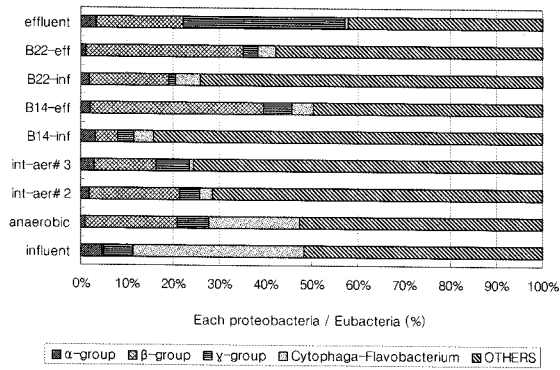


Fig. 7. Eubacterial colony(2nd, A STP).

Table 5. Bacterial distribution(2nd, A STP)

	ALF	BET	GAM	CF	OTHERS	EUB
effluent	8.6E+04* (3.3)**	4.9E+05 (18.9)	9.1E+0 5(35.0)	2.1E+04 (0.8)	1.1E+06 (42.0)	2.6E+06
B22-effluent	1.3E+07 (1.1)	4.1E+08 (34.2)	3.8E+07 (3.2)	4.6E+07 (3.9)	6.9E+08 (57.8)	1.2E+09
B22-influent	1.3E+07 (1.8)	1.3E+08 (17.3)	1.2E+07 (1.6)	4.0E+07 (5.3)	5.6E+08 (74.1)	7.5E+08
B14-effluent	1.8E+07 (2.1)	3.2E+08 (37.6)	5.2E+07 (6.1)	3.9E+07 (4.5)	4.2E+08 (49.7)	8.5E+08
B14-influent	3.8E+07 (3.1)	5.8E+07 (4.8)	4.3E+07 (3.6)	5.0E+07 (4.2)	1.0E+09 (84.3)	1.2E+09
intermittently aerated tank #3	3.3E+06 (3.0)	1.5E+07 (13.2)	8.1E+06 (7.3)	1.1E+06 (1.0)	8.4E+07 (75.5)	1.1E+08
intermittently aerated tank #2	6.2E+06 (1.8)	6.8E+07 (19.7)	1.4E+07 (4.2)	9.6E+06 (2.8)	2.5E+08 (71.5)	3.5E+08
anaerobic	1.9E+06 (1.0)	3.7E+07 (19.9)	1.3E+07 (6.8)	3.7E+07 (19.7)	9.8E+07 (52.6)	1.9E+08
influent	2.6E+05 (4.6)	2.6E+04 (0.5)	3.7E+05 (6.4)	2.1E+06 (37.0)	3.0E+06 (51.7)	5.8E+06

*: Absolute value(cells/mL), **: percentage(%)

본 연구에서 공정 내 미생물 군집구조를 분석한 결과, 유입수와 처리장 내, 유출수의 세균군집이 확연하게 다르게 나타나고 있음을 확인하였다. 특히 주목할 만한 점은 A 하수처리장의 pilot plant에서는 bioreactor를 거치면서 하수처리장에서 중요한 역할을 하는 β-proteobacteria group의 개체수가 증가한다는 사실이다. Table 7에 bioreactor 유입 및 유출수에 대한 β-group의 변화를 점유율과 절대값으로 표시하였다. Table 7에서 보듯이 1, 2, 3차 조사 시 모두 bioreactor를 거치면 β-group의 개체수가 유출수에서 유입수 대비 25~607% 증가하였으며, 2차 조사 시에는 그 증가율이 607%에 달하였다. 이 때의 총세균수도 10⁹ cells/mL 이상의 수준으로 이는 증식 가능한 최대의 개체수였다. β-group은 bioreactor를 거치면서 개체수가 늘어나면서 간헐포기조 2,3과 혐기조에 지속적으로 β-group을 공급하는 것으로 사료된다. 반면에 대조군에서는 α-와 β-proteobacteria group의 개체수 변화에 일정한 경향이 없었다.

FISH법을 통한 미생물 군집구조의 확인을 통하여 pilot plant에서는 주요 토양미생물인 *Pseudomonas*, *Nitrobacter*(이상 α-

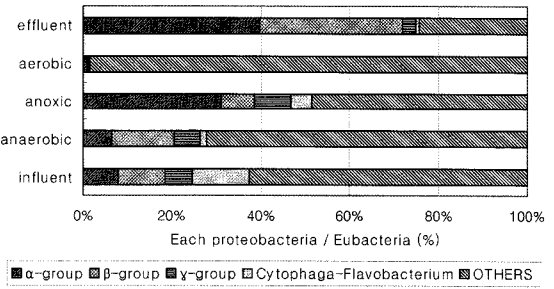


Fig. 8. Eubacterial colony(B STP, control).

Table 6. Bacterial distribution(B STP, control)

	ALF	BET	GAM	CF	OTHERS	EUB
effluent	1.6E+06* (39.7)**	1.3E+06 (32.1)	1.2E+05 (2.8)	4.4E+04 (1.1)	1.0E+06 (24.2)	4.1E+06
aerobic	8.1E+06 (0.7)	4.1E+06 (0.4)	5.6E+05 (0.1)	4.1E+06 (0.4)	1.1E+09 (98.4)	1.1E+09
anoxic	4.2E+07 (30.9)	1.1E+07 (7.8)	1.1E+07 (8.2)	6.2E+06 (4.5)	6.7E+07 (48.6)	1.4E+08
anaerobic	4.4E+06 (6.4)	9.9E+06 (14.2)	4.1E+06 (5.9)	1.0E+06 (1.4)	5.0E+07 (72.4)	7.0E+07
influent	3.0E+06 (7.9)	4.0E+06 (10.5)	2.3E+06 (6.0)	4.9E+06 (12.9)	2.4E+07 (62.6)	3.8E+07

*: Absolute value(cells/mL), **: percentage(%)

proteobacteria group), *Nitrosomonas*(β-proteobacteria group) 등이 속한 group이 bioreactor에서 증식되면서 시스템 내에 일정 수준으로 유지하는 것으로 확인하였다. 결론적으로, 제안된 retrofitting 공정에서는 bioreactor에 의하여 하수처리장에서 세균 군집 변화가 일어나며, 그 변화는 주로 하수처리에서 중요한 역할을 하고 질산화 과정에 관여하는 토양 미생물이 속한 β-proteobacteria group이 증가하는 것으로 확인되었으며, 이렇게 증가된 β-group의 미생물은 시스템 내에서 일정 농도를 유지하는 것으로 확인되었다.

3.2.3. *Bacillus* 개체수 및 포자 분석

Pilot plant와 대조군의 시스템 내 *Bacillus* 속의 변화를 FISH로 분석한 결과는 Table 8에 나타내었다. *Bacillus*의 비율은 대부분 1% 미만으로 나타났으며 *Bacillus* 개체수는 총세균수에 따라 변하는 것으로 조사되었다.

Table 7. β-proteobacteria group in influent and effluent of bioreactor

		distribution ratio(%)	bacterial number (cells/mL)	percentage increase(%)*
1st	B14-influent	43.6	6.7E+7	
	B22-effluent	54.8	24.2E+7	261
2nd	B14-influent	4.8	5.8E+7	
	B22-effluent	34.2	41.0E+7	607
3rd	B14-influent	12.1	6.1E+7	
	B22-effluent	45.7	7.6E+7	25

*: Percentage increase(%) = 100(bacterial number in influent - bacterial number in effluent) / bacterial number in influent

Table 8. Bacterial number of *Bacillus* in pilot plant and control STP

pilot plant	bacterial number (cells/mL)	control	bacterial number (cells/mL)
effluent	4.4E+05	effluent	5.0E+04
B22-effluent	2.4E+08		
B22-influent	8.0E+07		
B14-effluent	1.3E+08		
B14-influent	9.9E+07		
intermittently aerated tank #3	2.5E+07	aerobic	1.4E+06
intermittently aerated tank #2	1.2E+08	anoxic	4.8E+05
anaerobic	4.4E+07	anaerobic	5.7E+05
influent	1.4E+06	influent	1.8E+05

또한 *Bacillus* 속은 환경이 나빠지면 포자를 형성하므로 *Bacillus* 속의 개체수를 정확히 파악하기 위해서는 포자의 개체수를 포함하여야 한다. 이러한 목적으로 A 하수처리장의 pilot plant와 대조군인 B 하수처리장에서 *Bacillus* 포자를 측정 한 결과, 모든 경우에서 검출되지 않았다.

4. 결론

1) 경제적인 측면에서 본 연구를 통해 제안된 retrofitting 공정은 별도의 배양조를 건설하지 않음으로써 기존 고도처리공정의 초기건설비의 16%(60,000 m³/일 규모 고도처리시설 도입 기준)를 절감할 수 있을 것이며, 여기에 부지 절감 효과를 경제적으로 환산한다면 그 효과는 더 늘어날 것으로 사료된다.

2) 50 m³/일 규모의 pilot plant 운전을 통하여, BOD₅와 COD_{Cr}은 처리효율이 각각 91.7, 88.9%로 평가되었으며 계절에 관계없이 비교적 안정적인 처리효율을 나타내었고, 질소와 인의 평균 제거율은 각각 74.1%와 88.5%로 평가되었다. 이를 통하여 제안된 공정의 현장적용성은 우수한 것으로 사료되며 제안된 공정은 방류수질 기준을 만족하는 것으로 평가되었다.

3) Pilot plant와 대조군의 실험에서 총세균수는 각각 7.8~9.7×10⁷ cells/mL와 7.8~26×10⁷ cells/mL로서 큰 차이가 없는 것으로 나타났으며, bioreactor에서 총세균수가 다른 반응조에 비해 높고, 특히 8시간 동안의 체류시간 동안 bioreactor 내 미생물수의 증가를 확인할 수 있었다.

4) FISH법을 이용하여 공정 내 미생물 군집구조를 분석한 결과, 제안된 retrofitting 공정에서는 bioreactor에 의하여 하수처리장 내에서 세균 군집 변화가 일어나며, 그 변화는 주

로 하수처리에서 중요한 역할을 하는 토양 미생물이 속한 β-proteobacteria group이고, bioreactor 유출수에서 유입수 대비 25~60% 증가하는 것으로 확인되었으며, 이렇게 증가된 β-group의 미생물은 시스템 내에서 일정 농도를 유지하는 것으로 확인되었다.

사 사

본 연구는 한국환경기술진흥원이 주관하는 차세대핵심환경기술개발사업 '하·폐수처리장의 Retrofit에 적합한 악취 및 영양염류 동시제거공정 개발' 과제의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 환경부, 04년 하수종말처리시설 운영관리실태 분석, www.me.go.kr(2005).
2. Kim, Y. K., "Respirometric monitoring of microbial behavioral characteristics change through the retrofitting process," Hanyang University, Ph. D. Thesis(2003).
3. 신응배, 김미경, 김재현, "혐기-간헐포기 공정에서 기질의 종류에 따른 Biosorption 특성 평가," 한국물환경학회지, **19**(5), 473~483(2003).
4. 신응배, 김미경, 공동수, 홍준혁, "인축적 미생물의 인방출과 세포내 저장물질 합성관계," 한국물환경학회지, **20**(6), 692~697(2004).
5. Hobbie, J. E., Daley, R. J., and Japer, S., "Use of Nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy," *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 1225~1228(1977).
6. 홍선희, 김옥선, 송홍규, 이동훈, 안태석, "*Bacillus* 속 세균을 검출하기 위한 FISH 방법의 개발," 한국미생물학회지, **37**, 124~129(2001).
7. Alfreidner, A., Pentthaler, J., Amman, R., Sattler, B., Glockner, F. O., Wille, A., and Psenner, R., "Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by in situ hybridization," *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2138~2144 (1996).
8. Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., and Wagner, M., "Phylogentic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Procobacteria: Problems and solutions," *Syst. Appl. Microbiol.*, **15**, 593~600(1992).