

Comparison of nitrogen removal efficiency on process stability for granular and immobilized anammox bacteria

공정 안정성에 대한 입상 및 고정화 혐기성 암모늄 산화균의 질소제거효율 비교

Daehee Choi¹ · Hyokwan Bae² · Jinyoung Jung¹ · Sang-Hyoun Kim^{3*}

최대희¹ · 배효관² · 정진영¹ · 김상현^{3*}

¹영남대학교 환경공학과 · ²KIST 물순환연구단 · ³대구대학교 환경공학과

Abstract : Immobilization of anaerobic ammonium oxidizing bacteria has been studied to enhance the biomass retention of the slowly growing bacteria and the process stability. The purpose of this study was to compare the nitrogen removal efficiency of granular and immobilized anammox bacteria with poly vinyl alcohol and alginate. The specific anammox activity of the granular, homogenized and immobilized anammox bacteria were 0.016 ± 0.0002 gN/gVSS/d, 0.011 ± 0.001 gN/gVSS/d and 0.007 ± 0.0005 gN/gVSS/d, respectively. Although the activity decreased to 43.7 % of the original one due to low pH and O₂ exposure during the homogenization and the immobilization, it was rapidly recovered within 7 days in the following continuous culture. When synthetic T-N concentrations of 100, 200, 400, 800 mg/L were fed, the immobilized anammox bacteria showed higher nitrogen removal efficiencies at all operational conditions than those of granular anammox bacteria. When the sludge retention time was shortened below 30.7 days and the reject water was fed, the nitrite removal efficiency of the granular anammox bacteria dropped to 8 % of the initial value, while that of the immobilized anammox bacteria was maintained over 95 % of the initial one. The immobilization with poly vinyl alcohol and alginate would be a feasible method to improve the performance and stability of the anammox process.

Key words : anaerobic ammonium oxidizer, granular, immobilized, nitrogen removal efficiency, process stability

주제어 : 혐기성 암모늄 산화균, 입상, PVA 겔, 질소제거율, 공정 안정성

1. 서론

질소가 수계내로 다량 유입되게 되면, 수생태 환경에 독성을 미치고, 수계 내의 잔류 DO를 감소시키거나 부영양화를 발생할 수 있다. 또한 물리화학적 공법 중 염소소속 과정에서 유입되게 되면 소독 부산물을 생성하기 때문에 이러한 질소 화합물은 낮은 농도 수준으로 유지할 필요가 있다(Pathak et al., 2007; Kumar et al., 2010;

Ni et al., 2012).

질소를 제거하기 위한 방법은 다른 방법에 비해 보다 효과적이고 비용이 저렴한 생물학적처리 공법이 보편적으로 사용되고 있으며, 이 과정에서 질소는 질산화와 탈질화 과정을 거쳐 제거된다. 먼저 질산화과정에서는 호기조건에서 독립영양미생물에 의해 암모늄은 아질산염과 질산염으로 산화되며, 그 다음 탈질과정에서는 무산소 조건에서 종속영양미생물에 의해 질소가스로 제거되게 된다. 하지만 축산폐수, 매립지 침출수, 반류수와 같이 고농도 암모니아성 질소를 함유한

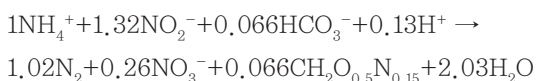
• Received 18 March 2014, revised 08 April 2014, accepted 10 April 2014.

* Corresponding author: Tel : +82-53-850-6691 Fax : +82-53-850-6699 E-mail : sanghkim1@daegu.ac.kr

폐수의 경우 질산화과정에서 막대한 양의 포기 비용(4.57 kg O₂/kg NH₃-N)이 발생하며, 탈질과정에서는 외부탄소원(3 ~ 6 kg COD/kg NO₃-N) 주입으로 인해 많은 유지 관리 비용이 소요되고 있어 문제점으로 지적되고 있다(Jung et al., 2005; Fux et al., 2002).

이러한 문제점을 위해 최근에는 많은 연구자들에 의해서 혐기성 암모늄 산화균(Anammox)을 이용한 비용절감형 고속질소 제거에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다. 혐기성 암모늄 산화균은 산소가 없는 조건에서 아질산염을 전자 수용체로 이용하여 암모늄을 산화하여 질소를 제거할 수 있는 새로운 경로를 가진 특이한 미생물로서 1990년대 초에 발견되어 지금까지 꾸준히 연구되어져 왔다. 이러한 혐기성 암모늄 산화균은 화학무기염양세균(Jetten et al., 1999)이기 때문에 탈질시 외부탄소원이 필요 없으며, 기존 질소제거과정에 비해 약 10 %의 슬러지가 생성된다는 장점이 있다. 이러한 장점으로 인해 혐기성 암모늄 산화균을 이용한 질소제거 공정은 기존 질소제거 방법에 비해 약 90 %까지(Jetten et al., 2001) 운전비용을 절약할 수 있다(Strous et al., 1998; Jetten et al., 1999; Van Loosdrecht et al., 2004; Furukawa et al., 2009; Van Hulle et al., 2010).

혐기성 암모늄 산화균의 반응 화학 양론은 다음과 같다(Strous et al., 1998).



위 화학반응식에서처럼 1 mol의 암모늄과 1.32 mol의 아질산염이 1.02 mol의 질소가스와 0.26 mol의 질산염이 생성된다.

그러나 혐기성 암모늄 산화균을 이용한 실 공정 적용 측면에서 볼 때 약 11일 정도의 느린 배가시간(Strous et al., 1998)은 가장 큰 문제점으로 지적되고 있다. 느린 배가시간으로 인해 공정 초기 단계에서 긴 시운전기간이 필요하며, 안정적으로 공정이 유지되고 있더라도 유입수 질

소 부하 변동, 저해 물질의 유입, N₂ 가스 버블 등과 같은 여러 가지 요인들에 의해 반응기에서 미생물이 반응기외로 유출되는 유실현상이 발생하여 공정 운전이 어려움을 주고 있다(Isaka et al., 2007, Bae et al., 2010). 실제로 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균 이용하여 로테르담(Rotterdam)에 설계된 첫 번째 실규모 반응기에서는 시운전기간이 약 800일(van der Star et al., 2007)이 소요되어 시운전기간을 줄이는데 중요하게 대두되었다. 따라서, 초기 운전 단계에서 충분한 양의 혐기성 암모늄 산화균을 확보하고 미생물의 유실을 최소화할 수 있는 방법을 확보하는 것이 실규모 반응기의 현장적용시에 필수적인 요건이 될 수 있다.

미생물 고정화 기술은 혐기성 암모늄 산화균이 가지고 있는 느린 배가시간으로 인한 단점을 극복할 수 있는 방법으로서 오래전부터 많은 연구자들에 의해서 미생물 고정화 기술에 대한 평가가 이루어졌다(Hachimoto et al., 1987; Sumino et al., 1992; Vogelsang et al., 1997; Doria-Serrano et al., 2001; Zhang et al., 2007; Takei et al., 2011). 많은 연구자들의 연구에 의하면 고정화된 미생물을 이용한 공정에는 크게 4가지 장점을 들 수 있다. 첫 번째는 반응기에서 고액분리가 쉬워 운전하기 아주 용이하고, 두 번째는 짧은 수리학적 체류시간(hydraulic retention time: HRT)에서도 미생물 체류시간을 길게 연장할 수 있으며, 세 번째는 반응기 안에 고농도의 미생물 농도를 유지할 수 있고, 네 번째는 확산 작용에 의해 독성 물질의 유입, pH 변동 등과 같은 저해 인자로부터 미생물을 보호하여 안정적인 질소제거가 가능하다는 장점이 있다.(Rostron et al., 2000; Quan et al., 2011; Yan et al., 2009; Takei et al., 2011; Sun et al., 2011; kimura et al., 2013).

이러한 장점을 이용하여 많은 연구자들이 혐기성 암모늄 산화균에 포괄 고정화기술을 적용한 연구를 수행하였다(Hsia et al., 2008;

Takei et al., 2011; Quan et al., 2010; Magri et al., 2012). Quan et al., (2010)은 합성폐수를 대상으로 높은 질소제거 속도인 $8.2 \text{ kg-N m}^{-3}\text{day}^{-1}$ 을 달성하였다고 보고하였으며, Magri et al. (2012)은 $11.30.7 \text{ g VSS/L}$ 의 혐기성 암모늄 산화균을 이용하여 약 $1.3 \text{ kg-N m}^{-3}\text{day}^{-1}$ 의 높은 질소 제거속도로 을 달성하였다고 보고하였다.

위와 같이 보고된 자료들에 의하면 혐기성 암모늄 산화균의 고정화 기술은 충분히 적용 가능하며, 고농도의 미생물 농도를 유지할 수 있고 기존의 질소제거 방법에 비해 높은 질속제거를 달성 할 수 있는 것으로 조사되었다. 하지만 기존 연구는 고정화된 혐기성 암모늄 산화균을 이용한 공정적용 가능성에 중점을 두고 있어 확산작용에 의해 여러 가지 저해인자로 부터 미생물을 보호하여 보다 안정적인 질소제거가 가능하다는 사실을 확인하기에는 한계가 있었다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 물질들 중 경제적이면서 미생물에 독성을 띄지 않는 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol: PVA)을 이용하여 고정화된 혐기성 암모늄 산화균의 안정적인 질소제거에 관한 연구를 수행하였다.(Asano et al., 1992; Chen et al., 1994; Vogelsang et al., 1997; Zain et al., 2011). 이를 위해 미생물 활성도에 영향을 미치는 여러 가지 요인들 중 실공정에 적용시 가장 큰 문제점으로 대두되는 유입 질소 농도 변화, 부분 질산화와 혐기성 암모늄 산화 연계 공정에서 부분질산화 반응이 원활하지 않을 경우 발생하는 질소 농도 및 성상의 변화에 대해 입상형태와 고정화된 혐기성 암모늄 산화균의 질소제거 성능을 비교하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 포괄 고정화 방법

혐기성 암모늄 산화균은 PVA를 이용하여 고정화하였으며, 사용된 미생물은 입상형태의 미생물로서 온도가 일정하게 조절되는 항온실(30

℃)에서 연속 회분식 반응기에서 배양되었다. 배양된 미생물은 24.84 gVSS/L 까지 중력 침전을 통해 농축되었으며 효과적인 고정화과정을 위해 균질기를 이용하여 입상형태의 미생물을 잘게 부수어 사용하였다. 그 다음 PVA polymer(100% saponification, 2000 polymerization, Wako Co., Ltd, Japan) 와 sodium alginate(DAE JUNG Co., Ltd, Korea)를 이용하여 PVA/sodium alginate를 제조하였고 충분한 교반 후 혼합물이 녹을 때까지 열을 가하였다. 그 혼합액은 약 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 까지 냉각하여 혐기성 암모늄 산화균과 1:1 비율이 되도록 혼합하였다. PVA/alginate와 혐기성 암모늄 산화균 혼합물은 H_3BO_3 과 CaCl_2 혼합 용액에 천천히 떨어뜨려 둥근 모양의 겔을 형성하였으며 기계적인 강도를 높이기 위하여 실험실 온도($25 \text{ }^\circ\text{C}$)에서 약 1시간동안 교반을 해주었다. 이어서 증류수로 여러번 세척한 다음 본 실험에 사용하였다. 제조된 PVA gel의 총 부피는 220 ml 였으며 PVA, sodium alginate, 혐기성 암모늄 산화균의 최종 농도는 각각 7.5%, 1%, 1.3%(w/v)이었다. 또한 제조된 겔의 평균 크기는 $3.880.27 \text{ mm}$ 였다.

2.2. 고정화 전·후 활성도 측정을 위한 회분식 실험

고정화과정에서 boric acid와 산소 노출, 균질화 등의 단계에서 혐기성 암모늄 산화균의 활성도에 어떠한 영향을 미치는지 파악하기 위하여 회분식 실험을 진행하였으며, 크게 고정화 전 입상형태를 대조군으로 하여 균질화 후 및 PVA에 고정화 후로 분류하여 실험을 진행하였다. 고정화과정에서 사용된 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균은 실험실에서 SBR 형태로 배양하던 미생물을 사용하였으며, 배양과정에서 사용된 기질 농도는 $50 \text{ NH}_4^+-\text{N mg/L}$, $50 \text{ NO}_2^--\text{N mg/L}$ 였다.

(1) 균질화과정이 혐기성 암모늄 산화균에 미치는 영향을 파악하고자 실험실에서 배양 중이

던 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균과 균질화 과정 후의 혐기성 암모늄 산화균을 이용하여 회분식 실험을 진행하였다.

(2) 고정화과정 전·후의 모든 과정이 혐기성 암모늄 산화균에 미치는 영향을 파악하고자 입상형태와 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균을 이용하여 회분식 실험을 진행하였다.

2.3. 합성폐수 및 부분질산화 반응기 유출수 성상

미생물 배양을 위한 합성폐수는 Table 1과 같은 조성으로 만들어졌으며, 미량 물질 I, II는 미생물에 적절한 환경을 조성하기 위하여 문헌에 제시된 농도대로 제조하였다(Strous et al., 1998). 또한 합성폐수에 대한 실험이 완료된 후 실제 반류수를 유입수로 사용하는 부분질산화 반응기의 유출수를 대상으로 추가적인 실험을 진행하였다. 이때 혐기성 암모늄 산화공정의 유입수의 성상은 Table 2와 같다.

Table 1. Characteristics of synthetic wastewater

	Concentration	
	Tap water (g/L)	Target concentration (mg/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.15 - 3.78	50 - 400
NaNO ₂	0.19 - 3.94	50 - 400
NaHCO ₃	0.504	72
KH ₂ PO ₄	0.027	6
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.123	12
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.176	48
Trace element solution I*	1 ml/L	
- EDTA	5	
- FeSO ₄ ·7H ₂ O	5	
Trace element solution II*	1 ml/L	
- ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.430	
- CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.240	
- MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.990	
- CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.250	
- Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.220	
- NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.190	
- Na ₂ SeO ₄ ·10H ₂ O	0.210	
- H ₃ BO ₃	0.014	

2.4. 반응기 구성

입상형태의 혐기성 암모늄 산화균이 충전된 반응기(R1)와 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균(R2)으로 충전된 반응기는 Continuous-Stirred Tank Reactor(CSTR)방식으로 운전되었으며, 총 2 L 부피로 제작되어 운전부피 1.5 L, HRT는 12 hr으로 운전되었다. 그리고 제조된 PVA 겔의 경우 적당한 교반이 없을 경우 겔 내부에서 생성된 질소가스가 배출되지 않아 수면위로 떠오르는 현상(Magri et al., 2012)이 발생하기 때문에 본 실험에서는 교반강도를 100 rpm으로 하였다. 혐기성 암모늄 산화균의 충전률은 15 %였으며, 두 반응기에서 모두 사용된 미생물 농도는 1.52 gVSS/L로 동일하게 실험을 진행하였다. 합성폐수를 제조하여 유입수로 사용하였을 경우 질소가스를 이용하여 탈기함으로써 DO농도를 0.5 mg/L이하로 유지하였으며 산소의 추가적인 유입을 막기 위해 밀봉된 용기를 사용하였다. 하지만 부분질산화 반응기의 유출수를 사용하였을 경우에는 탈기 없이 실험을 진행하였다. 유입수는 미량 펌프(Model JWS 100 with JP-300, Jenie Well Inc.)를 이용하여 받

Table 2. Characteristics of effluent and operating condition from partial nitrator reactor treating reject water

	Effluent concentration(mg/L)
NH ₄ ⁺ -N	329.4 ± 14.6
NO ₂ ⁻ -N	313.2 ± 19.6
NO ₃ ⁻ -N	0.04 ± 0.15
Alkalinity	160 ± 37.8
Dissolved oxygen	2.43 ± 0.12
COD _{Cr}	504.78 ± 78.11
pH	6.6 ± 0.1
Operating Condition of reactor	
Temperature(°C)	30
HRT(hours)	6
Nitrogen loading rate (kg-N/m ³ -d)	2.55
PVA bead size(mm)	3.34 ± 0.3
Working volume(L)	1.5
headspace(L)	0.5

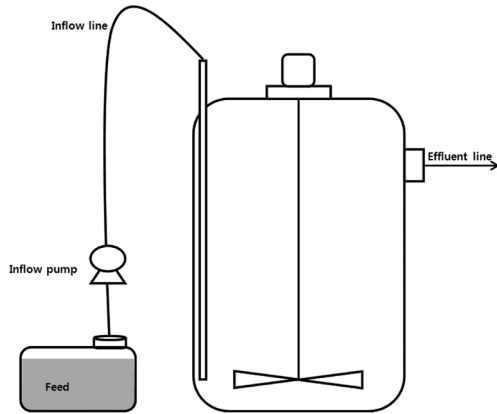


Fig. 1. Schematic diagram of anammox reactors operated with granular(R1) and PVA-gel(R2).

응기내부에 설치된 긴 관을 통해 반응기 하단으로 공급하였다. 일반적인 운전조건에서는 처리수가 유출되는 부분에 부직포를 이용하여 미생물 유출을 제어하면서 실험을 진행하였고, 미생물 유실에 따른 영향을 실험하였을 때에는 부직포를 제거하고 실험을 진행하였다. 두 반응기 모두 온도가 일정하게 유지되는 항온실(302 ℃)에서 실험을 진행하였다.

2.5. 입상형태와 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균의 질소 제거능 비교

혐기성 암모늄 산화균의 질소 제거능에 대한 평가는 총 세단계 나누어서 실험을 진행하였다.

(1) 급격한 유입수 질소 농도변화로 인해 혐기성 암모늄 산화균에 인위적인 충격부하를 가하였을 때 입상형태와 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균의 활성도에 미치는 영향을 파악하기 위하여 실험을 진행하였으며, 이 때 합성폐수의 유입수 질소 농도는 100, 200, 400, 800 T-N mg/L이었다.

(2) 실제 반류수내 포함된 혐기성 암모늄 산화균의 활성도 저해인자(유기물, 잔류 DO, 슬러지 탈수시 사용되는 polymer 등)에 대한 영향을 파악하고자 반류수를 유입수로 사용하는 부분질산화 반응기의 유출수를 이용하여 실험을 진행하

였다. 유입질소 부하변동이 활성도에 미치는 영향을 최소화하기 위하여 1단계에서와 달리 천천히 유입수 농도를 증가시켰으며, 이 때 사용된 유입수 질소 농도는 100, 200, 300, 400, 500, 6164 T-N mg/L이었다.

(3) 두 반응기에서 미생물 유출을 제어하던 부직포를 인위적으로 제거하여 반응기로부터 미생물의 유출을 유도 후 반응기에서의 SRT와 아질산염 제거율을 비교·평가하였다. 슬러지 체류시간(Sludge Retention Time: SRT)측정 시 PVA에 포집된 혐기성 암모늄 산화균을 충전한 반응기의 경우 실험 초기와 완료된 후 포집된 미생물 농도는 동일하다고 가정하였다. 그리고 반응기에서의 미생물 농도는 매우 빠르게 변화하기 때문에 SRT를 측정할 때마다 반응기내 미생물을 추출하여 SRT실험 결과에 반영하였고, 이 때 유출수 미생물 농도를 측정하여 SRT를 산정하였다.

2.6. 분석방법

모든 시료는 각 반응기의 유입수와 유출수를 채취하여 0.47µm의 공극을 가진 cellulose acetate 재질의 membrane filter를 이용하여 거른 후 물질 분석에 이용하였다. NO₂⁻-N, 알칼리도는 Standard Methods(APHA, 2005)에 따라 분석하였고 NO₃⁻-N은 이온크로마토그래피(ICS2100, DIONEX)를, NH₄⁺-N은 질소분석기(2200 Kjeltac Auto Distillation, FOSS TECATORS)를 이용하여 분석을 진행하였다. 균질화 과정에서는 균질기(T 10 basic ULTRA-TURRAX®, IKA®)를 이용하여 균질화를 수행하였다.

3. 결과 및 토론

3.1. 회분식 실험을 통한 고정화 과정 중의 활성도 변화

회분식 실험을 통해 포괄 고정화과정이 혐기

성 암모늄 산화균에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다. 회분식 실험에서는 배양 중이던 입상 형태(step 1), 균질화 후(step 2), PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균(step 3)으로 크게 세 분류로 나누어 실험을 진행하였으며, 그 결과를 Fig. 2에 도시하였다. 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균의 경우 nitrogen removal rate(NRR)와 specific anammox activity(SAA)는 각각 102.40.58 gN/m³/d, 0.0160.0002 gN/gVSS/d로 나타났는데, 이는 Jaroszynski et al., (2012)에 의해서 보고된 다양한 혐기성 암모늄 산화균의 활성도(SAA의 최대 범위: 0.05 ~ 1.9 gN/gVSS/d)에 비해 다소 낮게 측정되었다. 이는 실험실에서 배양 중이던 혐기성 암모늄 산화균의 경우 다소 낮은 농도인 50 mgNH₄⁺-N/L, 50 mgNO₂⁻-N/L에서 배양되어 비교적 낮은 활성도를 나타낸 것으로 판단된다. 균질화 과정 후 활성도 감소 현상이 나타났는데, NRR의 경우 34.7 % 감소된 66.793.35 gN/m³/d을 나타내었

으며, SAA의 경우 31.3 % 감소된 0.0110.001 gN/gVSS/d로 조사되어 다소 저해를 받는 것으로 조사되었다. 고정화 후에는 더 심각한 활성도 감소를 나타내었는데, NRR과 SAA의 경우 고정화과정 전에 비해 각각 82.3 %, 56.3 % 감소된 18.061.23 gN/m³/d, 0.0070.0005 gN/gVSS/d으로 조사되었다. 이러한 활성도 감소 현상은 포괄 고정화 과정을 거치면서 boric acid(pH<4) 또는 산소 노출 등에 의한 영향으로 판단된다(Takei et al., 2011, Zhan et al., 2013). 하지만 다음 단계에서 진행된 연속 배양 과정에서 고정화과정에서 저해된 활성도는 7일 내에 빠르게 회복되었다.

3.2. 유입 질소농도 급격한 변화에 따른 영향

미생물 포괄 고정화 기술이 가지고 있는 미생물 보호 효과 작용에 의해 공정의 안정성을 향상시킬 수 있는지 평가하기 위해 유입 질소농도 변화에 따른 입상형태(R1)와 PVA에 고정화

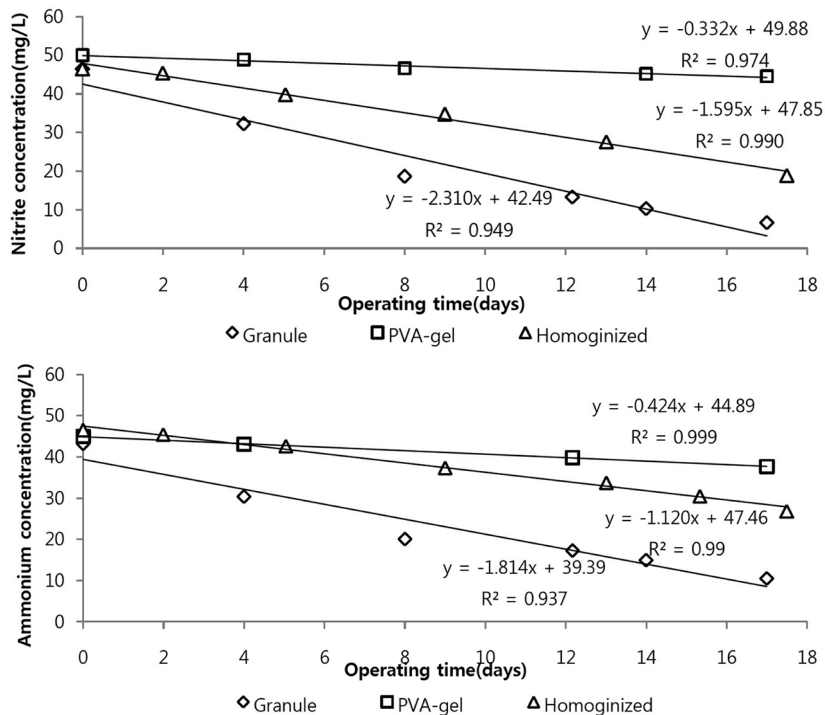


Fig. 2. Change of anammox activity during immobilization steps.

(R2)된 혐기성 암모늄 산화균의 성능을 비교하였다. 유입 질소의 농도는 100, 200, 400, 800 T-N mg/L로 단계적으로 변화시켰으며, 이 때의 nitrogen loading rate(NLR)는 각각 0.2, 0.4, 0.8 1.6 kg Nm⁻³d⁻¹이었다. 각 단계에서 공정이 안정화된 것으로 평가한 시기는 유출수 아질산성 질소가 약 5mg/L 이하로 유출되는 시점을 기준으로 하였다. 또한 효과적인 비교를 위해 두 반응기의 유출구를 부직포로 막아서 미생물 유실을 제어하면서 실험을 진행하였다.

Fig. 3.에는 유입수 NLR 변화에 따른 아질

산성 질소 제거율, 암모니아성 질소 제거율과 NRR(Nitrogen Removal Rate)을 나타내었다. 운전 초기 유입수 NLR이 0.2 kg Nm⁻³d⁻¹일 때 활성도의 차이는 나타내었지만 두 반응기에서 모두 약 7일 안에 유출수 아질산성 질소 농도가 5 mg/L이하로 유지되었다. 이 때 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균의 경우 고정화과정에서 활성도 저해 에도 불구하고 빠른 회복 능력을 보였다. 유입수 NLR을 0.4 kg Nm⁻³d⁻¹로 증가 시켰을 때 두 반응기에서 모두 활성도 저해 현상을 나타내었는데, R1의 경우 암모니아성

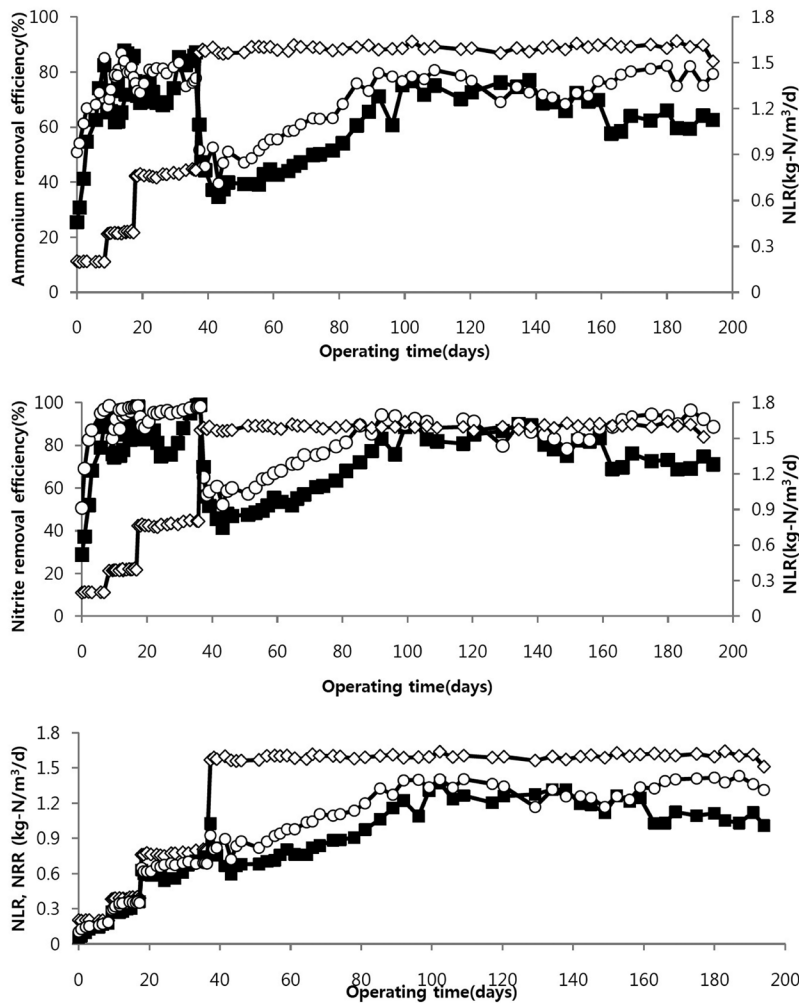


Fig. 3. Evaluation and comparison of nitrogen loading rate(NLR), nitrogen removal rate(NRR), ammonium and nitrite removal efficiency(%) depending on influent nitrogen concentration in the continuous operation, anammox immobilized in R2 (PVA/alginate, ○), R1 (Granular anammox, ■), nitrogen loading rate(◇).

질소 제거율과 아질산성 질소 제거율이 각각 62 %, 74 %까지 저하 되었으나, R2에서는 67 %, 83 %로 저하되어 R1이 R2보다 충격부하에 더 민감한 특징을 나타내었다. 활성도 회복 기간 또한 R1은 7일, R2는 5일로 나타나 고정화미생물 반응조가 상대적으로 우수한 회복능력을 나타내었다. 유입 질소 부하를 $0.8 \text{ kg Nm}^{-3}\text{d}^{-1}$ 로 증가시켰을 때에는 전 단계에서와 유사한 경향을 나타내었는데, R1에서는 암모니아성 질소 제거율과 아질산성 질소 제거율이 각각 67 %, 74 %까지 제거율이 저하 되었으나 R2에서는 각각 72 %, 88 %까지 저하되었고, R1과 R2에서 아질산성 질소제거율 차이는 전 단계에서 보다 높은 약 14 %의 차이를 나타내었다. 이는 고정화미생물의 경우 대표적인 기질저해 반응을 나타내는 아질산성 질소 유입에 대해 상대적으로 우수한 활성을 유지할 수 있기 때문인 것으로 판단된다. 정상상태까지의 회복기간은 R1, R2반응기에서 각각 18, 16일로 나타나 전 단계에서 보다 회복시간이 많이 소요되었다. 이어서 유입 질소 부하를 $1.6 \text{ kg Nm}^{-3}\text{d}^{-1}$ 로 증가시켰을 경우에는 앞

선 단계들에 비해 질소 제거율 감소폭이 크게 증가하였다. R1에서는 암모니아성 질소 제거율과 아질산성 질소 제거율은 각각 34 %, 39 %까지 감소하였으며, R2에서는 각각 41 %, 52 %로 감소하였다. 네 단계에 걸쳐서 진행된 본 실험에서 급격한 유입 질소농도 변화시 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균은 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균보다 평균 12 %의 질소제거율 더 감소한 것으로 나타났다. 따라서 포괄 고정화에 의해 보호된 겔내부의 미생물 활성이 우수하게 유지되어 고정화 미생물이 유입 질소농도 변화에 더 강한 내성을 지니는 것으로 나타났다.

3.3. 실제 반류수의 부분 질산화 처리수에 대한 영향

본 실험에서는 두 가지 형태의 혐기성 암모늄 산화균을 대상으로 원수(실제 반류수를 유입수로 하는 부분질산화 반응기 유출수)에 대한 영향을 파악하고자 실험을 진행하였다. 본 실험에서는 질소농도 변화에 대한 영향을 최소화하고 원수에 대한 영향만을 파악하기 위하여 유입수

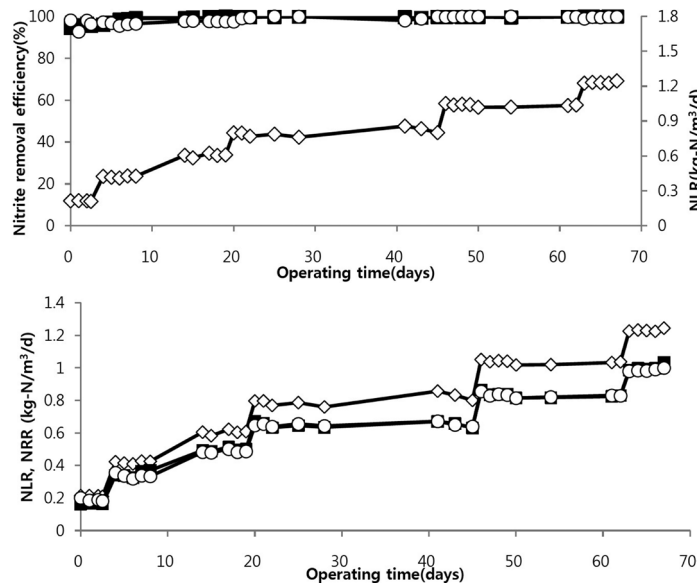


Fig. 4. Evaluation and comparison of nitrogen loading rate(NLR), nitrogen removal rate(NRR) and nitrite removal efficiency(%) for effluent from partial nitritation reactor with raw reject water in the continuous operation, anammox immobilized in PVA-gel(○), Granular anammox(■), nitrogen loading rate(◇).

질소 농도를 천천히 증가시키며 실험을 진행하였다. 기질 농도는 100, 200, 300, 400, 500, 6164 T-N mg/L였으며, 이 때 각 단계에서의 유입수 NLR은 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.23 kg Nm⁻³d⁻¹였으며, 그 결과를 Fig. 4에 도시하였다.

R1, R2에서 측정된 최대 NRR은 각각 1.03, 1.00 kg Nm⁻³d⁻¹ 으로 유사하게 측정되었고 모든 실험 단계에서 두 반응기 모두 유출수 아질산성 농도가 5 ppm 이하를 나타내어 활성도 감소 현상은 나타나지 않았다. 이에 따라 원수가 포함하고 있는 유기물, 잔류 DO, 낮은 pH와 같은 활성도 저해인자 보다는 앞 절에서 수행되었던 유입 질소 변화에 대한 영향이 혐기성 암모늄 산화균을 이용한 공정 운영관리 측면에서 더 중요한 요인으로 판단된다.

3.4. Sludge Retention Time(SRT)의 영향

반응기에서 미생물 유실을 제어하던 부직포를 제거하면서 R1과 R2에서 아질산성 질소제거율과 SRT를 비교 및 평가하여 Fig. 5에 도시하였다. R1에서는 초기 SRT가 1일로 나타나 빠른 미생물 유실이 일어났으며, 약 5일 후에는 30.7일까지 높아졌다. 하지만 그 후에는 지속적으로 SRT가 감소하는 경향을 나타내었다. 아질산성 질소 제거율은 2일부터 급격히 감소하기 시작하여 약 7일 후에는 8%까지 감소하였다. 이는 아

질산성 질소의 축적에 의한 저해영향이 심각하여 반응기 성능에 큰 악영향을 미치는 것을 의미한다. 이에 반해 R2에서는 유출구에서 부직포를 제거하였음에도 불구하고 아질산성 질소 제거율은 95% 이상을 유지되었다. SRT는 초기에는 낮은 3.3일로 나타내었으나 R1에서와 달리 추가의 SRT의 감소 없이 지속적으로 증가하였다.

SRT측정 시 반응기 내부에서의 강한 교반 또는 생성되는 질소가스에 의해 부상된 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균이 유출구에 있는 부직포를 제거하자마자 급격히 쓸려 나감으로써 초기 SRT는 아주 낮게 측정되었다. 따라서 R2에서도 초기 SRT가 낮게 측정된 것으로 보아 제조된 PVA-겔 내부에서 성장한 미생물은 반응기 내에서 부유된 형태로 존재하여 성장한 미생물과 고정화된 미생물이 공존하고 있는 것으로 나타났다. 이것은 R2의 경우 부유성 미생물과 PVA에 고정화된 미생물이 공존하면서 질소 제거율을 증가시킨 것으로 판단되며, 여러 가지 요인에 따른 미생물 유실현상이 발생하더라도 PVA에 고정화된 미생물은 지속적으로 유지되어 반응기의 공정 안정성을 유지할 수 있는 장점이 있는 것으로 판단된다.

3.5. 혐기성 암모늄 산화균의 화학반응 양론

Strous et al. (1998)는 혐기성 암모늄 산화균의 반응에서 $\text{NO}_2^- - \text{N}_{\text{removed}} / \text{NH}_4^+ - \text{N}_{\text{removed}}$

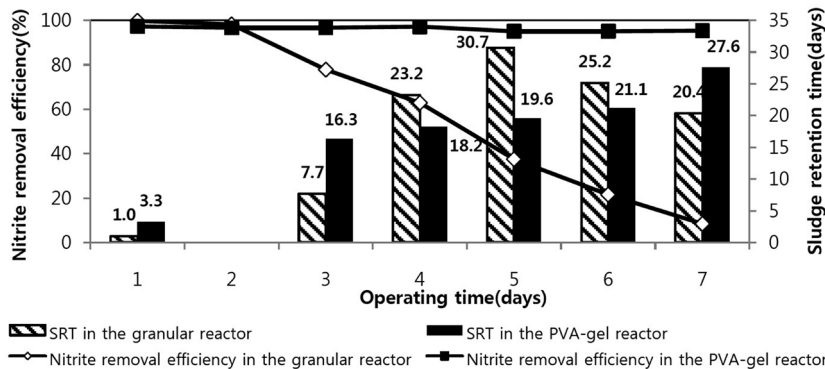


Fig. 5. Evaluation and comparison of nitrite removal efficiency(%) and sludge retention time(SRT) in the two types of anammox reactors.

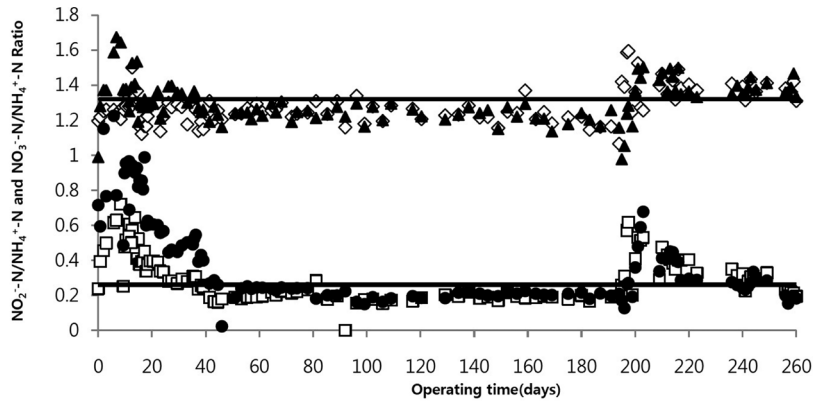


Fig. 6. Stoichiometry of anammox with synthetic and raw reject water in two types anammox reactors, anammox immobilized in PVA-ge(\blacktriangle ($\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$), \bullet ($\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$)), Granular anammox(\diamond ($\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$), \square ($\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$)).

비와 $\text{NO}_3^- \text{N}_{\text{produced}} / \text{NH}_4^+ \text{N}_{\text{removed}}$ 비는 각각 1.32, 0.26으로 보고되었다. R1과 R2에서 합성폐수를 대상으로 실험하였을 경우 화학 양론적 비($\text{NH}_4^+ : \text{NO}_2^- : \text{NO}_3^-$)는 각각 1:1.25:0.27과 1:1.28:0.26로 조사되었으며, 원수를 대상으로 하였을 경우에는 각각 1:1.39:0.24과 1:1.37:0.22로 조사되었다 (Fig. 6). 본 연구에서도 기존에 보고된 화학 양론적 비와 유사하게 나타나 혐기성 암모늄 산화 반응에 의해 질소가 제거된 것으로 판단된다. 원수를 유입수로 사용하였을 때는 제거된 아질산성 질소는 증가하였고, 생성된 질산성 질소의 비는 다소 감소하는 것으로 나타났다. Rusalleda et al., (2008)의 보고에 의하면 매립지 침출수를 대상으로 질소를 처리하기 위해 설치된 SBR반응기에서 혐기성 암모늄 산화균과 탈질 미생물이 같이 공존한다고 보고하였다. 이때 유출수에서의 질산염이 혐기성 암모늄 산화균의 반응에 의해 생성되어야 할 농도보다 낮게 검출되었으며, COD 또한 제거된다고 보고하였다. 이러한 점으로 미루어 보아 본 연구에서도 실제 반류수가 부분질산화 과정을 거쳐 혐기성 암모늄 산화균의 유입수로 사용하였기 때문에 탈질미생물에 의해 $\text{NO}_2^- / \text{NH}_4^+$ 비는 다소 증가하였고, $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ 비는 다소 감소한 것으로 판단된다.

4. 결론

입상형태와 PVA에 고정화된 혐기성 암모늄 산화균을 대상으로 질소 제거능을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

포괄 고정화 과정으로 인하여 SAA는 56.3% 감소하였지만, 감소된 활성도는 연속 배양 과정에서 7일 내에 빠르게 회복되는 것으로 나타났다.

유입수 질소 농도가 급격히 증가하였을 때 입상형태의 혐기성 암모늄 산화균의 경우 PVA에 고정화된 경우보다 평균 12%의 질소제거율이 더 감소되는 것으로 나타나 충격부하에 더 민감한 것으로 나타났다.

실제 반류수를 처리하는 부분질산화 반응기의 유출수를 유입수로 사용하였을 때, 두 반응기에서의 질소 제거율 차이는 나타나지 않았지만 미생물 유실을 제어하던 부직포를 제거하자마자 입상형태의 경우 아질산성 질소 제거율이 8%까지 감소된 반면 고정화된 경우에는 아질산성 질소 제거율을 95% 이상 유지하였다.

따라서 실 공정 적용 시 포괄 고정화기술을 적용하면 공정안정성을 향상시켜 다양한 운전조건의 변화에 대해 더 안정적인 질소제거가 가능할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2011학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Asano H., Myoga H., Asano M., Toyao M., 1992. A study of nitrification utilizing whole microorganism immobilized by the PVA-freezing method. *Water Science & Technology* 26, 1037-1046
- Bae H.K., Park K.S., Chung Y.C., Jung J.Y., 2010. Distribution of anammox bacteria in domestic WWTPs and their enrichments evaluated by real-time quantitative PCR. *Process Biochemistry* 45, 323-334
- Chen K.C., Lin Y.F., 1994. Immobilization of microorganism with phosphorylated polyvinyl alcohol(PVA) gel. *Exzyme and Microbial Technology* 16, 79-83
- Doria-Serrano M.C., Ruiz-Treviño F.A., Rios-Arciga C., Hernández-Esparza M., Santiago P., 2001. Physical Characteristics of Poly(vinyl alcohol) and Calcium Alginate Hydrogels for the Immobilization of Activated Sludge. *Biomacromolecules* 2, 568-574
- Furukawa K., Inatomi Y., Qiao S., Quan L., Yamamoto T., Isaka K., Sumino T., 2009. Innovative treatment system for digester liquor using anammox process. *Biore-source Technology* 100, 5437-5443
- Fux C., Bohler M., Huber P., Brunner I., Siegrist H., 2002. Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitrification and subsequent anaerobic ammonium oxidation (anammox) in a pilot plant. *Journal of Biotechnology* 99, 295-306
- Hashimoto S., Furukawa K., 1987. Immobilization of activated sludge by PVA-boric acid method. *Biotechnology and Bioengineering* 30, 52-59
- Hsia T.H., Feng Y.J., Ho C.M., Chou W.P., Tseng S.K., 2008. PVA-alginate immobilized cells for anaerobic ammonium oxidation (anammox) process. *J Ind Microbiol Biotechnol* 35, 721-727
- Isaka K., Date Y., Sumino T., Tsuneda S., 2007. Ammonium removal performance of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria immobilized in polyethylene glycol gel carrier. *Applied Microbiology Biotechnology* 76, 1457-1465
- Jetten M.S.M., Strous M., Van de Pas-Schoonen K.T., Schalk J., Van Dongen U.G.J.M., Van de Graaf A.A., Logemann S., Muyzer G., Van Loosdrecht M.C.M., Kuenen J.G., 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews* 22, 421-437
- Jetten M.S.M., Wagner M., Fuerst J., Loosdrecht M.V., Kuenen J.G., Strous M., 2001. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process. *Current Opinion in Biotechnology* 12, 283-288
- Jung J.Y., Kang S.H., Kim Y.O., Chung Y.C., 2005. Effects of Seeding Microorganisms, Hydrazine, and Nitrite Concentration on the Anammox Activity. *Journal of Korean Society on Water Quality* 21, 477-483
- Kimura Y., Itokawa H., Noto K., Murakami T., Isaka K., 2013. Stability of autotrophic nitrogen removal system under four non-steady operations. *Biore-source Technology* 137, 196-201
- Kumar M., Lin J.G., 2010. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal-Strategies and issues. *Journal of Hazardous Materials* 178, 1-9
- Magrí A., Vanotti M.B., Szögi A.A., 2012. Anammox sludge immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) cryogel carriers. *Biore-source Technology* 114, 231-240
- Ni S.Q., Ni J.Y., Hu D.L., Sung S., 2012. Effect of organic matter on the performance of granular anammox process. *Biore-source Technology* 110, 701-705
- Pathak B.K., Kazama F., Saiki Y., Sumino T., 2007. Presence and activity of anammox and denitrification process in low ammonium-fed bioreactors. *Biore-source Tech-*

- nology 98, 2201–2206.
- Quan L.M., Khanh D.P., Hira D., Fujii T., Furukawa K., 2011. Reject water treatment by improvement of whole cell anammox entrapment using polyvinyl alcohol/alginate gel. *Biodegradation* 22, 1155–1167
- Quan L.M., Liem T.T., Khanh D.P., Furukawa K., 2010. High Ammonium Wastewater Treatment of Stirred Tank Anammox Reactor using Polyvinyl Alcohol/Alginate Gel as Biomass Carrier. *Japanese Journal of Water Treatment Biology* 46, 109–117
- Rostron W.M., Stuckey D.C., Young A.A., 2000. Nitrification of high strength ammonia wastewaters: comparative study of immobilisation media. *Water Research* 35, 1169–1178
- Ruscalleda M., López H., Ganigué R., Puig S., Balaguer M.D., Colprim J., 2008. Heterotrophic denitrification on granular anammox SBR treating urban landfill leachate. *Water Science & Technology* 58, 1749–1755
- Strous M., Heijnen J.J., Kuenen J.G., Jetten M.S.M., 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 50, 589–596
- Sumino T., Nakamura H., Mori N., Kawaguchi Y., 1992. Immobilization of nitrifying bacteria by polyethylene glycol prepolymer. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 73, 37–42
- Sun J., Liu J., Liu Y., Li Z., Nan J., 2011. Optimization of Entrapping Conditions of Nitrifying Bacteria and Selection of Entrapping Agent. *Procedia Environmental Sciences* 8, 166–172
- Takei T., Ikeda K., Ijima H., Kawakami K., 2011. Fabrication of poly(vinyl alcohol) hydrogel beads crosslinked using sodium sulfate for microorganism immobilization. *Process Biochemistry* 46, 566–571
- van der Star W.R.L., Abma W.R., Blommers D., Mulder J.W., Tokutomi T., Strous M., Picioreanu C., van Loosdrecht M.C.M., 2007. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation; experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. *Water Research* 41, 4149–4163
- van Hulle S.W.H., Vandeweyer H.J.P., Meesschaert B.D., Vanrolleghem P.A., Dejans P., Dumoulin A., 2010. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal* 162, 1–20
- van Loosdrecht M.C.M., Hao X., Jetten M.S.M., Abma W., 2004. Use of Anammox in urban wastewater treatment. *Water Science & Technology: Water Supply* 4(1), 87–94
- Vogelsang C., Husby A., Osgaard K., 1997. Functional stability of temperature-compensated nitrification in domestic wastewater treatment obtained with PVA-SBQ/alginate gel entrapment. *Water Research* 31, 1659–1664
- Yan J., Hu Y.Y., 2009. Partial nitrification to nitrite for treating ammonium-rich organic wastewater by immobilized biomass system. *Bioresource Technology* 100, 2341–2347
- Zain N.A.M., Suhaimi M.S., Idris A., 2011. Development and modification of PVA-alginate as a suitable immobilization matrix. *Process Biochemistry* 46, 2122–2129
- Zhan J.F., Jiang S.T., Pan L.J., 2013. Immobilization of phospholipase a1 using a polyvinyl alcohol-alginate matrix and evaluation of the effects of immobilization. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 30, 721–728
- Zhang L.S., Wu W.Z., Wang J.L., 2007. Immobilization of activated sludge using improved polyvinyl alcohol (PVA) gel. *Journal of Environmental Science* 19, 1293–1297