

PB8) 농화배양된 anammox biomass의 생리적 특성

조순자*, Satoshi Okabe¹, 문충만², 신항식², 이상준
부산대학교 미생물학과, ¹홋카이도대학 도시환경공학과
²KAIST 도시환경공학과

1. 서 론

혐기적인 조건하에서 아질산염을 전자수용체로 이용하여 암모니아를 산화시켜 탈질을 유도하는 혐기성 암모늄 산화(anaerobic ammonium oxidation, anammox)가 15여년전 네덜란드 공과대학의 Mulder 등에 의해 발표되었다(Mulder *et al.*, 1995). 이러한 anammox의 오폐수공정에서의 탈질공정으로서 응용은 기존 질소 처리 공정에 비해 질산화과정에서 소비되는 산소를 60% 이상 절감할 뿐만 아니라 탈질과정에 요구되는 탄소원의 추가적인 첨가를 요구하지 않기 때문에 운전비용을 극도로 줄일 수 있는 경제적인 질소제거공정을 가능하게 할 것이다. 따라서 발견초기부터 폐수내 질소제거를 하고자 하는 상업적 활용에 대한 연구가 유럽과 일본을 중심으로 활발히 진행되고 있으며, 현재 anammox 공정은 침출수와 축산폐수 등에 폭넓게 그 적용을 시도하고 있다. 하지만, 대부분의 anammox 관련균주가 증식속도가 현저히 늦은 독립영양균주에 속하는 것으로 알려져 있을 뿐 아니라 배양적인 기술로 분리되지 않은 상태이어서 그 생리적인 특성을 연구하는데 있어 애로가 있으며, 실제 폐수에 적용되었을 때 폐수속에 공존하는 다른 물질들이 anammox 활성화에 미치는 영향에 대한 구체적인 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 미생물 군집조성에서 80%이상 anammox균으로 농화배양된 biomass를 이용하여 anammox 공정의 실패수 적용에서 고려되어야할 환경인자에 대한 anammox biomass의 생리적인 특성을 규명하고자 하였다. 그 중에서 페놀과 glucose를 유기물원으로 하여 유기물에 대한 anammox biomass의 반응을 살펴보았으며, 아울러 urine과 같은 고농도 질소폐수에 포함되어있기 쉬운 salt가 anammox 활성화에 미치는 영향 및 필수기질이면서도 고농도가 되면 anammox 활성을 저해시킨다고 알려진 nitrite의 anammox활성에 미치는 영향을 회분식 실험을 통하여 알아보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 식중 anammox biomass

회분실험에 이용된 anammox biomass는 up-flow방식의 anammox 연속반응기로부터 얻어졌다. 일반 하수슬러지를 식중원으로 하여 1년이상 인공폐수로 농화배양된 anammox biomass는 anammox 반응으로서 $10 \text{ Kg m}^{-1} \text{ day}^{-1}$ 의 질소제거효율을 보이는 anammox 활성이 높은 biomass로서, fluorescine *in situ* hybridization (FISH) 기법을 이용하여 실험한 결과 전체 biomass중 80%이상인 anammox bacteria로 확인되었다. 그리고 16S rRNA 유전자 서열에 의한 계통분석에 의하면 실험에 사용된 균주는 잘 알려진 anammox 균주중

Candidatus Brocardia anammoxidans (AF375994)과 95.7%의 상동성을 가지고 있었다.

2.2. 회분실험

모든 회분실험은 30 ml의 유리병을 이용하였으며 각 실험은 3개의 유리병을 한 조로 하여 실시되었다. 각 유리병에는 10 mg-VSS L⁻¹의 anammox biomass가 식종되었으며 biomass를 식종하지 않은 조를 대조군으로 하였다. 각 회분실험을 위한 배양조 유리병은 실험설정의 조건을 맞춘 후 butyl 고무마개와 알루미늄 마개를 이용하여 외부공기를 차단하였으며 산소에 의한 anammox 활성의 저해를 없애고자 유리병내를 질소가스로 치환함으로써 혐기조건을 조성하였다. 그 후 37°C의 배양기내에서 40 시간을 배양한 후 배양전후의 배양액내의 질소태변화와 pH변화를 조사함으로써 anammox활성을 평가하였다.

2.3. anammox biomass의 생리적 특성

2.3.1. 기본배지

anammox활성에 영향을 미치는 환경인자들에 대한 생리적인 특성을 연구하기 위한 분회분실험의 기본배지로서는 Graff *et al*이 제시한 인공폐수를 사용하였으며 그 조성은 (NH₄)₂SO₄ (50 - 400 mg L⁻¹), NaNO₂ (50 - 400 mg L⁻¹), KHCO₃ (500 mg L⁻¹), KH₂PO₄ (27 mg L⁻¹), MgSO₄·7H₂O (300 mg L⁻¹), CaCl₂·2H₂O (180 mg L⁻¹), and 1 ml L⁻¹의 trace element 용액 I 과 II이다 (de Graff *et al.*, 1996).

2.3.2. anammox biomass의 생리적 특성조사

유기물로서는 glucose와 phenol을 사용하였으며, salt로서는 NaCl 그리고 다양한 농도 설정의 nitrite를 anammox 활성측정을 위한 배양유리병에 넣어 본 실험을 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. glucose에 의한 영향

화학적 산소 요구량 (COD) 값으로 100 mg L⁻¹이 되도록 glucose 농도를 설정하고, glucose를 첨가한 조의 반응을 첨가하지 않은 조의 반응을 배양전후 비교분석한 결과에 의하면 유기물을 첨가한 조에서는 반응결과 배양액내 질소태의 변화가 잘 알려진 anammox반응의 stoichiometry에 근접한 값을 보인 반면 glucose를 첨가한 조에서는 그 stoichiometry를 약간 벗어났으나 glucose를 첨가하지 않은 실험조에 비해 COD의 감소와 함께 더 큰 질소제거효율을 보였다. 이는 glucose를 첨가한 실험조에 nitrate도 첨가 (ammonia : nitrite : nitrate를 1 : 1 : 1의 비율)한 결과 유도된 종속영양탈질의 영향으로 유추된다. 즉, anammox biomass가 자연계에 존재할 때 공생체의 형태로 종속영양탈질균도 함께 존재함으로써 anammox 반응뿐만 아니라 종속영양탈질도 동시에 진행되어 유기물제거와 질소제거가 동시에 일어날 수 있는 고무적인 결과를 보여주었다고 할 수 있었다 (Figure 1A).

3.2. phenol에 의한 영향

일반 세균이 쉽게 분해할 수 없는 유기물의 일종인 phenol을 함유한 폐수에 대한

anammox 반응의 적용가능성을 살펴보기 위하여 140 mg L^{-1} 의 ammonia와 nitrite를 각각 전자공여체와 전자수용체로 설정한 배지에 다양한 농도의 phenol ($0\text{-}400 \text{ mg L}^{-1}$)을 첨가한 후 배양하였다. 결과에 의하면 반응전후 phenol의 분해제거는 거의 발견되지 않았으며, anammox반응은 $100 - 200 \text{ mg L}^{-1}$ 의 phenol 농도에서 저해가 일어났으나 300 mg L^{-1} 까지는 어느 정도 내성이 있는 것으로 판단되어졌다. 그러나 phenol 400 mg L^{-1} 농도에서는 anammox 활성저하가 현저하여 대조군의 활성대비 20%이하의 활성을 보였다. 하지만 이 값은 기질로서 이용되는 nitrite가 크게 저해영향을 미친 300 mg L^{-1} 보다 높은 값으로서 난분해성 탄소원이 공존하더라도 영향을 미치지 않는 범위라면 anammox공정이 질소제거 공정으로 적용될 수 있는 가능성을 보여주었다 (Fig. 1B).

3.3. nitrite에 의한 영향

nitrite에 대한 anammox활성저하는 이미 보고되었으나 그 최저저해농도나 기작은 현재까지 불분명하다. 본 실험에서는 nitrite의 농도를 $0 - 400 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도까지 적용한 결과 본 연구에 사용된 식종 anammox biomass에 한하여서는 200 mg L^{-1} 부근의 농도가 anammox 반응에 최적 nitrite농도로 추정되었으며 그 이상의 고농도에서는 anammox 활성이 현저히 감소함으로써 200 mg L^{-1} 이상의 nitrite농도는 anammox 활성저하를 초래할 것임을 알 수 있었다 (Fig. 1C).

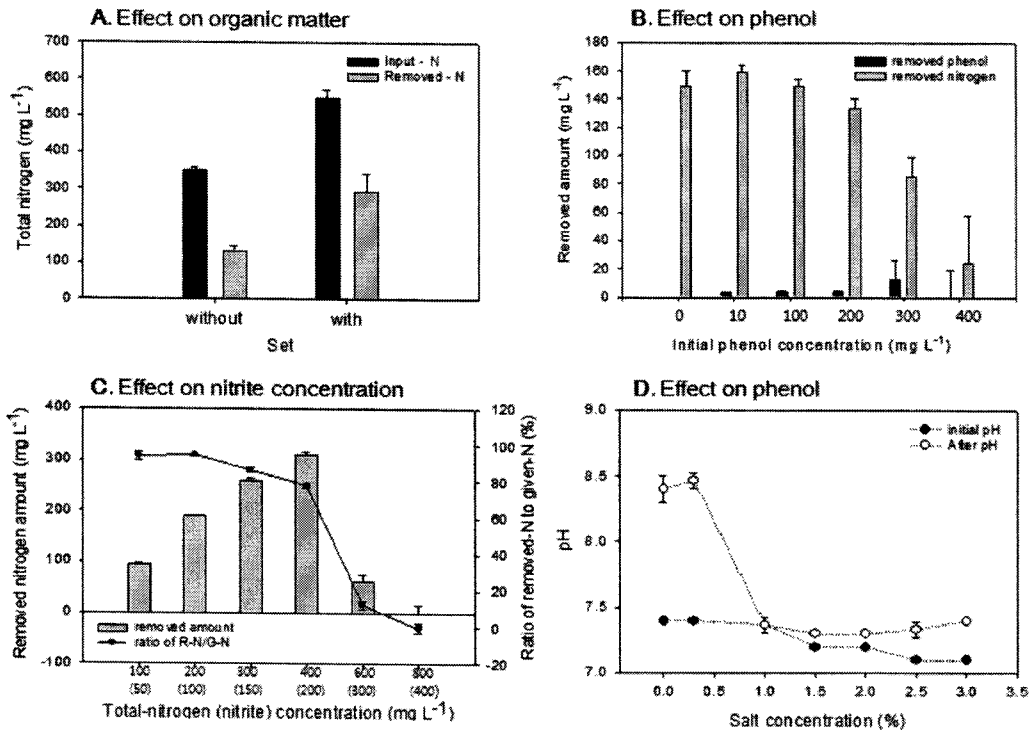


Fig. 1. 유기물 (glucose, phenol), nitrite 그리고 salt가 anammox 활성에 미치는 영향

3.4. salt에 의한 영향

salt로 순화되지 않은 anammox biomass에 있어서 anammox활성에 미치는 영향을 0 - 3%의 NaCl을 첨가염으로 하여 살펴보았다. 고농도의 salt농도로 인하여 anammox활성을 배양전후의 배양액내 이온분석으로는 측정할 수 없었으나 anammox반응 후에는 일반적으로 pH가 상승한다는 pH의 변화에 근거하여 실험결과를 해석하자면 0.3%까지의 salt에 한하여서는 anammox활성에 영향을 미치지 않을 것으로 예상되며, 1%에서부터 현저하게 감소한 결과를 볼 때 salt에 의한 anammox 반응의 저해는 0.3 - 1%농도사이에서 시작되어질 것으로 보인다. 그러므로, 이러한 저해농도보다 높은 salt농도를 가지는 폐수의 경우에는 반드시 적절한 순화기간을 거친 biomass에 적용되거나 유입폐수가 적절히 희석이 된 후에 적용되어야 할 것이다 (Fig. 1D).

4. 결 론

Glucose, phenol, nitrite 그리고 salt의 anammox활성에 미치는 영향을 아래의 표로 요약하였다.

| 환경인자 | 영 향 |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| glucose | 본 실험에서 설정한 COD값으로서의 100 mg L ⁻¹ 에서는 anammox활성저하를 유발시키지 않았다. |
| phenol | phenol 농도로서 300 mg L ⁻¹ 정도까지는 어느 정도 내성을 가졌으나 400 mg L ⁻¹ 의 농도에서는 활성저하를 현저히 보였다 |
| nitrite | 200 mg L ⁻¹ 보다 높은 고농도의 nitrite는 anammox활성을 현저히 떨어뜨렸다. |
| salt | salt에 순화되지 않은 anammox biomass의 경우 1%이하의 농도에서도 anammox 활성이 저하되었다. |

참 고 문 헌

- Mulder A., van de Graaf A.A., Robertson L.A., Kuenen J.G., 1995, Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiol. Ecol., 16, 177-183.
- van de Graf, A.A., de Bruijn P., Robertson L.A., Jetten M.S.M., Kuenen J.G., 1996, Autotrophic growth of anaerobic, ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor, Microbiology, 142, 2187-2196.
- 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., 1999, The anaerobic oxidation of ammonium, FEMS Microbiol. Rev., 22, 421-437.
- Kartal B., Koleva M., Arsov R., van der Star W., Jetten M.C.M., Strous M., 2006, Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater, J. Biotechnol., 126, 540-553.