

SHARON/ANAMMOX 결합공정에서 슬러지의 입상화와 특성

황인수 · 민경석^{*†}

상주시축산폐수처리사업소

^{*}경북대학교 환경공학과

Granulation and Characteristics of Sludges in the Combined SHARON/ANAMMOX Processes

In-Su Hwang · Kyung-Sok Min^{*†}

Office of Livestock Wastewater Treatment Plant, Sanju city

^{*}Department of Environmental Engineering, Kyungpook National University

(Received 20 October 2005, Accepted 21 December 2005)

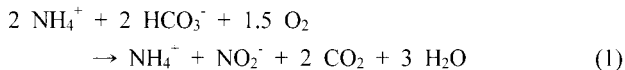
Abstract

The combined SHARON (Single reactor system for High ammonium Removal Over Nitrite)-ANAMMOX (Anaerobic ammonium oxidation) reactor were operated in mesophilic condition (35°C). In this study, microbial granulation and characteristics of SHARON and ANAMMOX sludges were investigated using settling test, Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH). In SHARON reactor, Aerobic granulation with diameter of 1.5~2.5 mm was accomplished but aerobic granulation was weaker than anaerobic granular sludge. Initial seed sludge of ANAMMOX reactor was used as attached media for biofilm growth. ANAMMOX sludge was more compact and rounder rather than seed sludge. Though ANAMMOX sludge has high activity, it has lower settling ability than the seed granule. The color of ANAMMOX sludge was changed from dark to redish brown granular with diameter of 1~2 mm. In FISH of ANAMMOX sludge, high fraction of *Candidatus B. stuttgartiensis* which paid great role of nitrogen conversion was detected. Also, FISH results reveals that ANAMMOX bacteria inhabit at inner parts near surface, having advantages in utilization of substrates and protection from oxygen inhibition.

keywords : Granulation, Microbial characteristics, SHARON-ANAMMOX

1. 서론

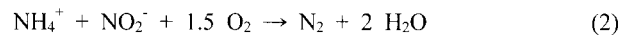
SHARON 공정은 단일 반응조에서 암모니아성 질소를 아질산성 질소로 전환하는 고효율 공정이다(Hellinga et al., 1998). 이 공정은 슬러지 체류시간이 필요 없으며, 아질산성 질소가 질산성 질소로 전환되는 것을 방지하여 낮은 운전비용을 가능하게 한다. SHARON 반응식은 식 (1)과 같이 제안된다.



Logemann 등(1998)은 SHARON 반응조에 존재하는 미생물군집을 조사하기 위하여 16S rRNA PCR(polymerase chain reaction)을 이용하여 분석한 결과, 반응조에서 4가지 이상의 다른 형태의 미생물의 존재를 발견하였다. 한개의 clone이 우점종(69%)으로 나타났는데, 이는 *N. eutropha*와

매우 유사(98.8%)하였다. 반면에 14%는 새로운 *Cytophaga/Flexibacter* group이었고, 4%는 β -proteobacteria에 속했다.

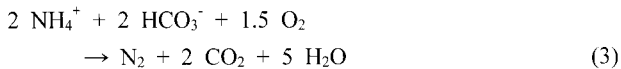
Strous 등(1998)은 순차적 회분식 반응기(SBR)를 이용하여 ANAMMOX 미생물의 최적 성장조건을 연구한 결과, SBR은 지속적으로 안정하고 매우 선택적인 조건을 수행하는 것이 가능하고 ANAMMOX 공정에 관여하는 미생물의 높은 증식을 유도할 수 있다고 보고하였다. 식 (2)는 ANAMMOX를 나타낸 반응식이다.



ANAMMOX 미생물의 존재는 분자학적 분석기술인 FISH 기법을 사용하여 존재를 확인할 수 있게 되었다. 다양한 gene probe들을 사용하여 매우 고농도인 질소부하와 공기 공급이 제한적인 몇 개의 폐수처리시스템에서 *Candidatus B. anammoxidans*와 관련있는 세균들의 존재를 확인하였고, 이 과정에서 *Candidatus B. anammoxidans*와는 다른 *Candidatus B. stuttgartiensis*의 존재를 발견하게 되었다(Schmid et al., 2000).

SHARON과 ANAMMOX를 결합한 반응식은 식 (3)과 같다.

[†] To whom correspondence should be addressed.
ksmin@knu.ac.kr



최근 슬러지의 입상화에 대한 연구들이 활발하게 진행되고 있다. 그레놀의 성장은 생물막 성장을 고려할 수 있는 아주 특이한 척도가 될 수 있음에도 불구하고, 생물막과는 달리 혐기성 그레놀이나 호기성 그레놀은 미생물적인 구조적 조직화와 특징에 대하여 자세하게 밝혀져 있지 않다. 일반적으로 슬러지의 입상화는 상향류혐기성반응기(Up-flow Anaerobic Sludge Bed, UASB)와 같은 혐기성 조건에서 일어나는 것으로 알려져 있으나, 많은 연구결과에서는 혐기성 조건 이외에도 반응조 운전방법 등 다양한 조건에서 입상화가 일어날 수 있다고 보고되고 있다(Beertink, 1987; van der Hoek, 1988; de Beer et al., 1993; Beun et al., 1999; Tay et al., 2001). Kwok 등(1998)은 호기성 조건에서도 고농도 유기조건에서는 생물막 공기상승무반응조(biofilm airlift suspension reactor)에서 기질의 부하율과 반응조내 수리학적 전단력에 의해 입상화가 일어난다고 보고하였고, Morgenroth 등(1997)은 SBR에서 기질을 간헐적으로 주입시에 침강성이 양호한 입상슬러지가 생성된다고 하였다. Tay 등(2001)은 미생물에 의해 생성된 EPS(extro-cellular polymeric substance) 물질은 대부분 다당류이고 미생물의 표면전하를 변화시켜 입상화의 중요한 역할을 수행하며, 수리학적, 미생물학적, 운전조건에 따라 상이하다고 하였다.

최근 국내에서도 호기성 슬러지에 대한 연구들이 진행되고 있다(김 등, 2004; 윤 등, 2004; 이 등, 2004). 이 등(2004)은 입상활성슬러지와 일반활성슬러지의 특성을 비교한 실험에서, 산소호흡속도가 빠른 입상슬러지가 활성슬러지에 비하여 활성이 더 좋은 것으로 나타났다고 보고하였다. 연구결과, 활성슬러지의 입경분포는 비교적 고른데 반하여, 입상 슬러지의 입자분포는 활성슬러지에 비하여 상대적으로 큰 입자들이 많이 존재하였다. 또한 입상활성슬러지는 P, S, Fe 및 Ca 성분이 많이 검출되는 반면에 일반 활성슬러지는 Mg, Al 및 Si성분이 입상슬러지보다 상대적으로 높게 검출되었다.

혐기성 입상화 슬러지는 처음 상향류혐기성반응기에서 관찰되었으며(Letting et al., 1980), 최근에는 ANAMMOX 공정에서 많이 연구되고 있다(Ahn et al., 2004; Imajo et al., 2004). van de Graaf 등(1996)은 ANAMMOX 활성이 있는 식종된 슬러지는 cytochrome이 증가한 경향을 가지고 있으므로 갈색에서 적색으로 변하였다고 보고하였다.

본 연구자들은 그동안 수년에 걸쳐서 돈사폐수와 아질산성 질소용액의 혼합액을 사용하여 ANAMMOX 반응을 유도하는데 성공하였다(황 등, 2002a, 2002b, 2002c, 2004; Min et al., 2002; Ahn et al., 2004). 최근, 돈사폐수를 혐기성 처리한 고농도 질소폐수를 이용하여 암모니아와 아질산성 질소혼합액을 생산하는 SHARON 반응조를 운영하였으며, ANAMMOX 공정과 결합하여 폐수를 처리하는데 성공하였다(Hwang et al., 2004a, 2004b). 본 연구에서는

SHARON과 ANAMMOX 반응조의 운전중에 나타나는 슬러지의 입상화와 특성을 규명하는데 목적을 두었다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험장치

기존 연구에서 ANAMMOX 반응을 유도한 1 L의 ANAMMOX 반응조 전단에 1 L SHARON 반응조를 설치하여 SHARON/ANAMMOX 반응조를 결합하여 운전하였다. SHARON 반응조에는 세정산발효조와 메탄 형성조를 거친 ADEPT(Anaerobic digestion elutriated phase treatment) 공정 유출수를 기질로 사용하였고, 결합된 SHARON/ANAMMOX 반응조는 중온(35°C) 조건에서 운전하였다.

초기 SHARON 반응조에는 축산폐수처리장의 질산화조에서 채취한 TSS 18,000 mg/L 및 VSS 13,000 mg/L인 슬러지를 접종하였고, 중온(35°C)조건에서 약 200일 동안 운전하였다. ANAMMOX 반응조 후단에는 0.5 L 침전조를 설치하여 유출수의 침전과 반송을 하였으며, SHARON과 ANAMMOX 반응조 모두 SBR 형태의 fill and draw type으로 1일 4회 기질을 주입하였다. 약 0.5 Q의 비율로 침전 슬러지 반송을 하였고, 수리학적 체류시간(HRT)은 SHARON과 ANAMMOX 반응조 각각 1일 및 5일로 운전하였다.

본 연구에서 SHARON 유출수는 유출 초기에 2.5~3.5 mg/L의 DO가 잔류함에 따라 직접 ANAMMOX 반응조에 투입시에는 잔류 산소에 의한 ANAMMOX 반응 저해를 일으킬 수 있었다. 따라서 잔류 산소를 제거하기 위해 체류시키는 SHARON 반응조의 유출수 저류조와 ANAMMOX 반응조의 유입수 저류조를 분리하여 운영하였다. SHARON 유출수를 일단 유출수 저류조에 보관한 후, 전량 ANAMMOX 반응조 유입수 저류조로 이송시켰다. ANAMMOX 반응조의 운전조건에 따라 사용하고 남은 과잉의 ANAMMOX 유입수는 대부분 폐기시켰다. 기질의 DO 감소와 기질 균등화를 위하여 ANAMMOX 유입수 저류조에는 혼합장치를 설치하였다.

Fig. 1에 SHARON과 ANAMMOX 반응조가 결합된 모식도를 나타내었다.

2.2. SHARON 유입수 성상

SHARON 반응조의 유입기질로서 슬러리형 돈사폐수를 ADEPT공정으로 처리한 유출수를 사용하였다. ADEPT 공정에는 축산폐수공공처리장에 유입되는 슬러리형 돈사폐수를 드럼스크린과 원심분리기를 통하여 협잡물을 제거한 저류조액을 유입기질로 사용하였다. 원심분리를 거친 폐수는 COD 43~56 g/L, SCOD 22.2~38.6 g/L, TKN 4.9~5.2 g/L, NH₄-N 2.7~4.7 g/L였다. SHARON 유입기질인 ADEPT 공정유출수는 평균 pH 8.1, TCOD 2,650 mg/L, SCOD 1,680 mg/L, TKN 1,530 mg/L, NH₄-N 965 mg/L였고, NO₂-N과 NO₃-N은 2 mg/L 이하로서 극히 낮은 농도였다. 공정특성상 대부분의 분해성 유기물(BCOD)이 소모되어 C/N비가 낮았다. 또한 T-P 202 mg/L, S-P 61 mg/L, VFA 1,420

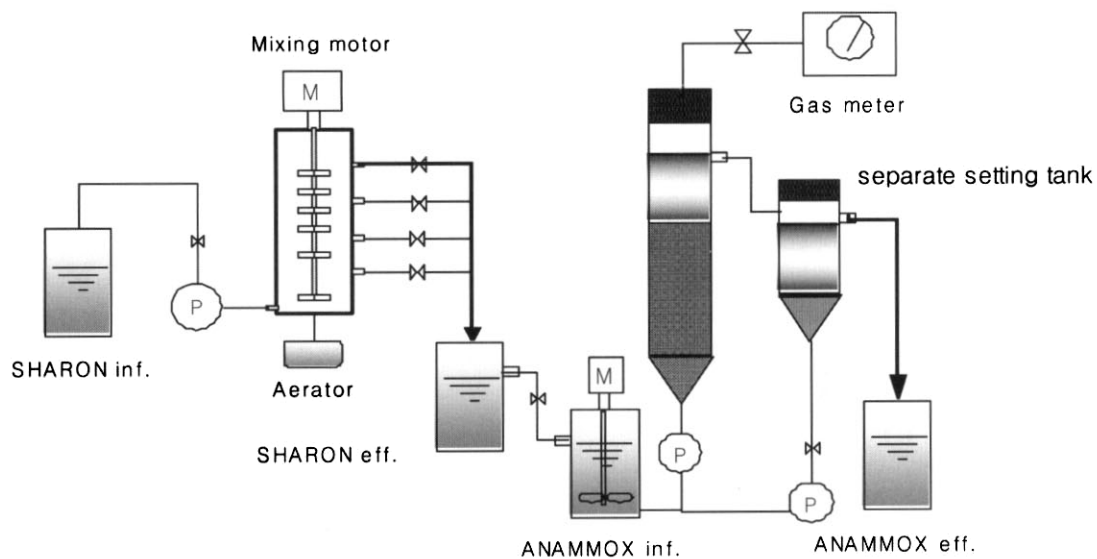


Fig. 1. A schematic diagram of combined SHARON-ANAMMOX process.

mg/L였다. 분석은 Standard Methods(APHA et al., 1998)에 준하여 측정하였다.

2.3. 입상슬러지 침전성 실험방법

슬러지의 유출가능성과 입상화 정도를 평가하기 위하여 원수로 사용한 돈사폐수와 식종슬러지 및 300일 운전한 반응조의 슬러지에 대하여 침전실험을 실시하였다. 이 방법은 입상슬러지의 침전성이 입상슬러지의 크기와 밀도에 매우 의존적이라는 원리를 토대로 한 것으로서 공정의 허용상향 유속과 반송비는 물론, 폐수의 특성에 따른 제어에 활용할 수 있는 자료를 도출할 수 있는 장점이 있다. Plug-flow형 수직관내로 일정한 상향유속을 공급하여 이 유속에 부유하는 가벼운 슬러지를 분리시켰고, 다음 단계에서 반복적으로 상향유속을 증가하여 점진적으로 입상슬러지의 크기와 밀도에 따라 세분하였다. 세분된 슬러지의 누적된 양의 퍼센트(또는 질량)와 상향유속과의 관계를 토대로 침전곡선을 작성함으로써 간접적으로 입상화에 따른 밀도변화를 평가하였다. 본 실험은 다양한 부하량에 따른 비교가 아닌, ANAMMOX 활성을 보이는 입상슬러지의 평가에 국한하였다.

2.4. 슬러지의 분석 방법

식종슬러지 미생물분석을 위하여 DNA 추출과 PCR 증폭에 의한 염기서열 분석법을 사용하였다. PCR의 분석은 Muyzer 등(1993)의 방법에 따라 수행하였다. 식종슬러지와 ANAMMOX 반응조 슬러지의 표면특성을 관찰하기 위하여 SEM 분석을 사용하였고, ANAMMOX 미생물 군집의 활성

을 평가하기 위하여 반응조 운전개시 전후에 FISH 분자기법을 사용하여 분석하였다. 각각의 목(order), 속(genus)과 검출대상 세균 및 총 세균 개체수의 평균값은 형광현미경(Zeiss Axioplan, Germany)과 CLSM(Confocal laser scanning microscopy: Zeiss Pascal, Germany)을 사용하여 15회 무작위로 선택된 구간에서 계수한 값을 산술평균하였고, 결과치는 총 세균에 대한 대상세균수의 백분율로 표현하였다. Table 1은 본 연구에서 ANAMMOX 미생물을 확인하기 위하여 FISH에 사용한 probe를 정리한 것이다.

3. 결과 및 고찰

Table 2는 SHARON과 ANAMMOX 반응조의 운전결과를 요약한 것이다.

3.1. SHARON 미생물의 입상화

본 연구에서는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 ADEPT 공정 유출수를 기질로 이용하여 약 200일동안 운전한 SHARON 반응조에서 슬러지의 입상화 현상이 나타났다.

SHARON 반응조의 호기조건에서 초기 집종한 부유성 슬러지가 입경 약 1.5~2.5 mm로 입상화 되었다. 그러나 혐기성에서 형성된 것과는 달리, 결합력이 약하여 작은 힘에도 쉽게 형태가 해체되었다.

윤 등(2004)은 입경범위 3~5 mm 정도의 호기성 입상슬러지가 성장하기 위하여 4.14 kgCOD/m³-day의 부하와 짧은 침전시간을 적용한 SBR 공정에서 약 45일 정도가 소요되었고, 이때 반응조 MLSS는 최대 약 12,000 mg/L까지

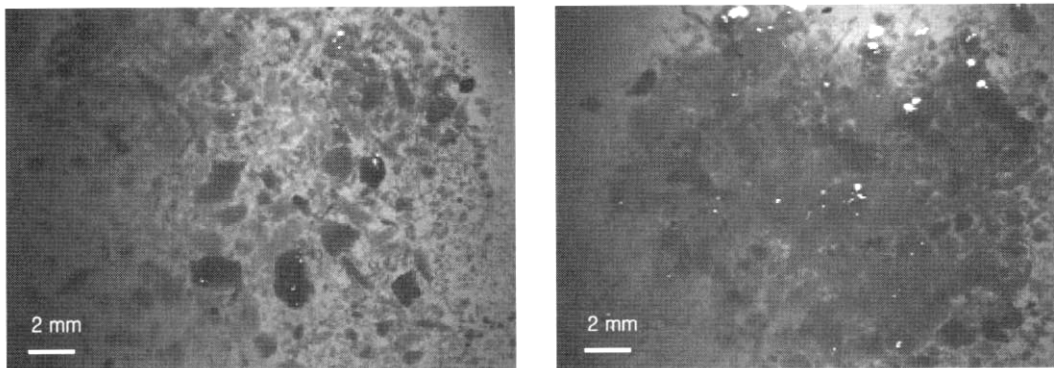
Table 1. Oligonucleotide probe used in the FISH analysis

Probes	Labelling dye	Probe sequence(5'→3')	Target organisms	%FA*/mM[NaCl]	Reference
Pla46	FITC	GACTTGCATGCCTAATCC	<i>Planctomycetales</i>	25/159	Neef et al.,1998
Kst1275	Cy3	TGGCTTTATAGGTTTCGCA	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	25/159	Schmid et al., 2000

Note) * Percentage formamide in the hybridization buffer

Table 2. Operation conditions and results of the nitrogen removal in the combined SHARON/ANAMMOX process during steady state operation

Parameter	SHARON	ANAMMOX	Unit
Operation period	93~121	66~94	day
NH ₄ -N influent	973 ± 37	213 ± 32	mgN/L
NO ₂ -N influent	max.2	323 ± 34	mgN/L
NH ₄ -N effluent	225 ± 49	92 ± 14	mgN/L
NO ₂ -N effluent	392 ± 51	77 ± 37	mgN/L
pH	8.3 ± 0.3	8.7 ± 0.1	-
NO ₂ -N loading	-	0.65 ± 0.07	kgNO ₂ -N/m ³ -day
NH ₄ -N loading	0.97 ± 0.04	0.43 ± 0.07	kgNH ₄ -N/m ³ -day
Specific N _{tot} removal rate	0.03 ± 0.01	0.09 ± 0.013	kgN/kgDS-day

**Fig. 2.** Granulation of sludge in SHARON reactor.

증가하였다고 하였다. 본 연구에서 SHARON 반응조의 운전조건은 윤 등(2004)의 조건과 상당히 유사하였는데, COD 부하는 평균 3.19 kgCOD/m³-day, 최대 4.16 kgCOD/m³-day였다. 또한 운전 MLSS와 MLVSS는 각각 약 18,000~21,000 mg/L 및 13,000~15,000 mg/L로 유지되었으며, 연속포기조건에서 SBR 형태의 fill-and-draw 방식으로 기질을 주입하였다.

김 등(2004)은 연속회분식 반응기에서 형성된 입상 슬러지를 분석한 결과, 입상슬러지 표면에는 간균형(rod type) 세균들이 밀집하고 있으며, 입상슬러지 단위 mg당 1.28 × 10⁹의 개체가 존재하는 것으로 나타났다.

3.2. ANAMMOX 미생물의 입상화와 침전성 변화

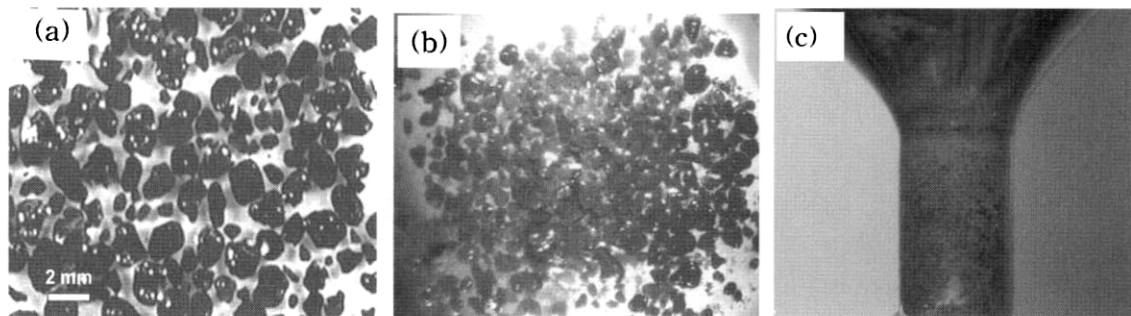
3.2.1. 입상슬러지의 색변화

Fig. 3에 ANAMMOX 반응에 따른 슬러지의 색깔변화 특성을 나타내었다. ANAMMOX 반응초기에는 집중한 슬

러지가 검은색을 띠었지만, ANAMMOX 반응이 진행되면서 슬러지의 색깔변화가 관찰되었다. ANAMMOX 반응조 슬러지의 색깔이 검은색에서 붉은 갈색으로 변했는데, 이는 cytochrome의 함량 증가 때문이라는 van de Graaf 등(1996)의 보고와 동일하였다.

3.2.2. 입상슬러지의 침강성 변화

ANAMMOX 반응조의 안정상태에서 기질이 유입되는 반응조 하부에 1~2 mm 직경을 가진 입상슬러지가 관찰되었다. 돈사폐수는 침전성이 거의 없으나, 운전시간경과에 따라 식종 슬러지보다 ANAMMOX 반응이 일어난 후의 슬러지가 상승속도에 대한 누적슬러지가 그래프는 X축에 근접하였다. 즉, 시간이 경과한 슬러지의 침강성은 비록 초기 식종한 슬러지보다는 다소 악화되었지만, 시간이 지남에 따라 침강성이 향상된 것으로 나타났다. 이를 통하여 입상슬러지의 밀도와 크기증가에 따른 입상화와 활성도의 증가를

**Fig. 3.** Micrographs of ANAMMOX granular sludge (a: Seed granule; b: after 300days; c: bottom of ANAMMOX reactor).

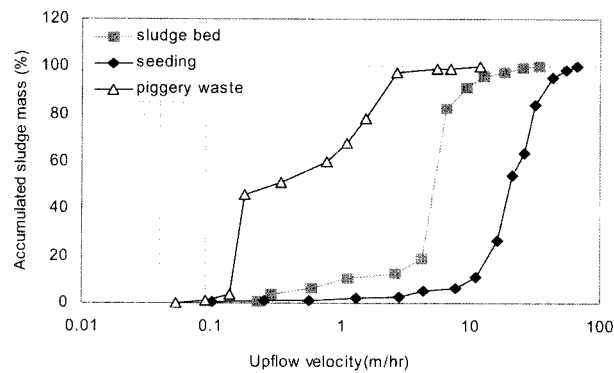


Fig. 4. Settling ability profiles of granular sludge, ANAMMOX sludge and piggery wastewater.

예상할 수 있었다. Imajo 등(2004)의 연구결과에서도 상향류반응조(up-flow reactor)에서 ANAMMOX 미생물의 입상화가 일어났을 때, 초기 접종 슬러지보다 밀도가 2~3% 낮아졌다. 반면에 입경은 부착 생물막에 새로운 입상슬러지의 형성에 따라 초기 0.2~3 mm에서 약 1 mm로 전환되었다.

3.2.3. 식종슬러지 분석결과

지금까지 ANAMMOX 미생물은 Planctomycetes에 속하는 미생물 균이라고 여러 논문에서 발표되었다. PCR 실험결과, 최초 식종된 주정폐수를 혐기성 처리하는 처리장의 슬러지는 Planctomycetes에 속하는 미생물균이 아니라 반응조에서 우점하는 미생물 균은 *Colstridium* group에 속하는 미생물들로 나타났다. *Clostridium* group은 편성 혐기성 미생물로 당과 단백질을 이용하여 발효에 관여하는 미생물이다. *Fusibacter paucivorans*는 혐기적인 조건에서 thiosulfate-reducing bacterium이고 PG, PI, PJ 미생물들은 gut bacterium(pig gasatointestinal tract microbes)으로 혐기적인 환경에서의 서식하는 미생물균이다.

결국, 앞선 연구에서 ANAMMOX에 적합한 운전조건이 부여됨으로 인하여, 주정폐수처리 슬러지를 매개로 하여 짧은 시간에 ANAMMOX 활성이 높아진 것으로 사료된다.

3.2.4. SEM 결과

Fig. 5는 식종 전후 슬러지의 SEM 사진이다.

슬러지는 플록을 이루고 있으며 (a), 초기 입상 슬러지는 1~2 mm 정도의 울퉁불퉁한 타원형으로 생겼다(b). 입상슬러지의 표면은 기다란 봉모양의 사상성 세균에 의해 매우 복잡하게 둘러 싸여져 있다(c,d). (e~h)는 약 300일 동안 운전한 ANAMMOX 반응조의 중간부위에서 채취한 슬러지의 SEM 사진이다. 입상슬러지는 생물막 또는 각종 입자상 물질을 초기 부착할 수 있는 핵으로 성장하였고, 초기 식종한 슬러지 입자와 비교하여 전체적으로 둥근 모양으로 전환되었다(e). 가스와 기질의 전달경로로 추측되는 기공이 산재하고 있으며(f), 이는 표면에서의 세포성장(micro-colonies)과 입상슬러지 내부로 부터의 활발한 질소 등 바이오가스 생성에 의한 것으로 볼 수 있다. 표면의 조직이 식종슬러지보다 좀더 복잡해 졌고, 표면 미생물의 형상이 입체성을 띠고 있다(g). 식종슬러지에서 많이 보이던 사상형 세균은

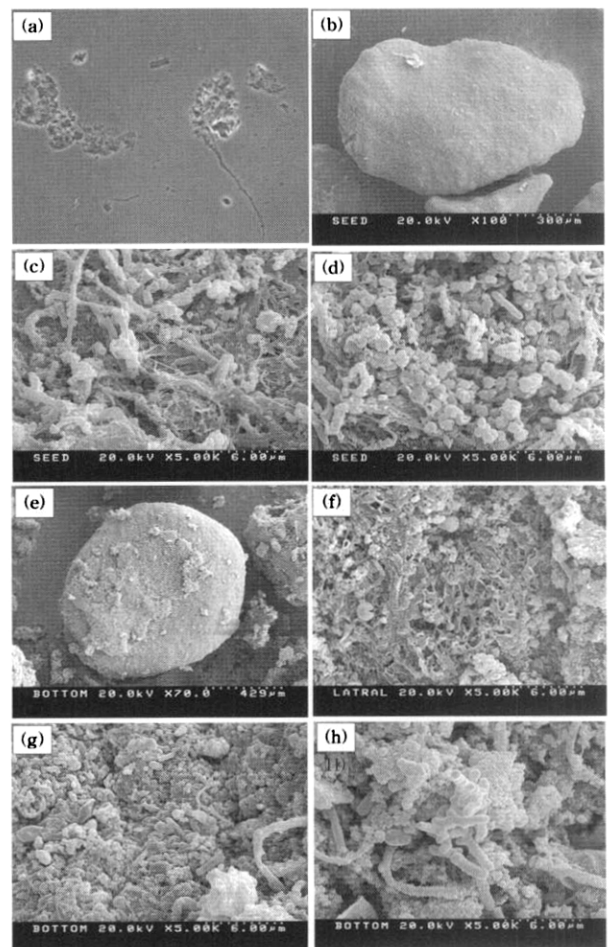


Fig. 5. SEM of Microbial populations and distribution of biopellets. (a) flocs of sludges; (b) original seed granule; (c),(d) prior to start-up; (e)~(h) during continuous ANAMMOX for 300days.

극히 드물게 발견되었다.

ANAMMOX 반응 운전후, 사상성 세균은 급격하게 감소한 반면에, 사슴뿔 형태의 플록이 입체적으로 입상슬러지의 표면에 부착되어 있다(h). Imajo 등(2001)은 약 1년 동안의 배양후 ANAMMOX 슬러지는 지름 10~30 μm 범위의 구형(spherical type)의 덩어리들로서, 이러한 입자들은 cocoid 형태의 세균으로 구성되어 있다고 하였다. 이러한 결과는 본 실험과 유사하였다. Wang 등(2005)는 3개월 운전한 EGBS(expanded granular sludge bed) 반응조의 ANAMMOX 입상슬러지를 SEM으로 조사한 결과, 입상슬러지는 비교적 모양이 규칙적이었고, 평평한 표면을 가진 다소 구형입자였다. 이것은 사상균이 존재하는 곳에서 나타나는 주로 타원과 짧은 간균형태의 박테리아로 구성된 입상슬러지에서 발견되는 미생물과는 다른 종류였다. 외부 층은 중심과 비교하여 좀더 솜털모양으로 보풀하고 느슨한 구조였다. 반면에 입상슬러지의 중심은 밀도가 높은 구조였다. 본 연구에서는 Wang 등(2005)보다 운전기간(약 300일)이 길었고, 높은 활성으로 인하여 입상슬러지 표면에 부착된 미생물막이 더욱 복잡하였고, 매우 높은 밀도를 보였다. 또한 슬러지 외부에

사상형 미생물은 극히 적었다. 본 연구와 동일한 입상슬러지를 사용하여 중온(35°C) 조건에서 100일 이상 운전된 ADEPT 공정의 메탄형성조의 슬러지를 SEM으로 관찰한 (배, 2003) 결과에서는 본 연구의 결과와는 달리 형태학적으로 *Methanothrix spp.*와 동일한 filament형 박테리아가 주종을 이루었다.

3.2.5. FISH 결과

Fig. 6은 ANAMMOX 반응조의 슬러지를 FISH 기법으로 분석한 결과이다. ANAMMOX 반응조의 미생물을 분석한 결과, ANAMMOX 미생물인 *Planctomycetales*와 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*의 존재를 확인할 수 있었다. (a)와 (b)는 약 300일 동안 가동한 ANAMMOX 반응조 입상슬러지에 존재하는 세균상(細菌相)이다. 초록색은 FITC로 라벨링된 Pla46 probe로 검출한 *Planctomycetales*의 존재를 나타내고 있으며, 적색은 CY3로 라벨링한 Kst1275 probe로 검출한 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*의 존재를 나타내고 있다. (a)와 (b)에서 보는 바와 같이, ANAMMOX 미생물은 granule의 내부보다는 외부에 가깝게 존재하고 있음을 보여주고 있다. ANAMMOX 미생물은 생리적인 특성상 산소와 접촉이 어려운 granule의 중심에 가까운 내부가 생존에 유리하다. 그러나 기질과의 접촉가능성을 고려하였을 때, granule의 외부 가까운 위치가 생육위치로서 가장 유리한 것으로 판단된다.

Lin 등(1997)은 무산소조건에서 통성 탈질균(facultative denitrifiers)과 혐기성 메탄생성균(anaerobic methanogens)이 각각 다른 입상슬러지 부위 즉, 입자의 외부표면과 내부에 각각 존재하고 있음을 발견하였다. 그들은 PVA gel bead를 사용하여 생물반응조에서 탈질세균과 메탄생성세균의 co-immobilized mixed culture system을 운전한 결과, 메탄생성균들은 bead 내부에 형성된 엄격한 혐기성 구역(anaerobic zone)에서 생육하는 반면에, 탈질세균들은 오직 nitrate가 충분한 bead 표면 부근의 제한된 무산소구역(anoxic zone)에서 높은 밀도로 생육하고 있다는 것을 발견하였다. 이것은 탈질균들이 bead 표면층에서 확산에 의해 공급되어진 질소산화물을 완전히 소모할 수 있기 때문일 것이라고 결론지었다. 이것은 Tanaka 등(1986)이 제안한

“서식처 분리(habitat segregation)” 현상과 유사하다. 결과적으로 이러한 현상으로 인하여 탈질 미생물과 ANAMMOX 미생물들간의 상호공존이 가능하고 공정시스템 또한 안정적으로 운전될 수 있었음을 추론할 수 있다.

본 연구결과, ANAMMOX 반응조의 슬러지에서는 일반적인 PCR 방식으로는 ANAMMOX 미생물이 검출되지 않았다. 그러나 입상슬러지의 절편에 의한 FISH를 시행한 결과, *Planctomycetales*가 총 세균에 대하여 17%를 차지하였고, 이중 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*가 약 29%였다. 그러나, ANAMMOX 반응조를 약 300일 운전 후에는 *Planctomycetales*가 총 세균에 대하여 약 77%로서 약 2.7배 증가하였고, 이중 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*가 약 77%를 차지하였다.

침출수를 이용한 Egli 등(2001)의 연구에서는 *Candidatus B. anammoxidans* 보다는 NO₂-N과 인(phosphorus)에 대한 내성이 강한 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*가 우점되어 나타났다. 돈사폐수를 사용한 본 연구에서도 ANAMMOX 반응조 유입기질이 NO₂-N 261~380 mg/L 및 T-P 103~251 mg/L(S-P 45~87 mg/L)였으며, Egli 등(2001)과 동일한 결과를 보였다.

4. 결론

35°C 중온조건에서 SHARON과 ANAMMOX 반응조를 운전하면서 침강성, SEM, FISH 등을 이용하여 반응에 관여하는 미생물의 특성을 조사하였다. 호기성인 SHARON 반응조의 슬러지에서도 직경 1.5~2.5 mm 입상화 현상이 일어났으나, 혐기성 입상화보다 결합력이 약하여 쉽게 해체되었다.

ANAMMOX 반응조에서는 초기 식종한 슬러지가 생물막의 부착담체역할을 하였으며, 식종 초기와 비교하여 입자형상이 좀더 원형에 가까워졌다. 또한 입자표면에 사상성 세균은 급격히 감소한 반면 표면조직이 더욱 복잡해지고 입체성을 띠었다. ANAMMOX가 유도된 슬러지는 식종 슬러지보다 침강성은 다소 약화되었으나, cytochrome의 증가에 의해 검은색에서 검붉은 빛깔로 입자의 외형이 변하였다. FISH 기법으로 ANAMMOX 슬러지를 분석한 결과, ANAMMOX

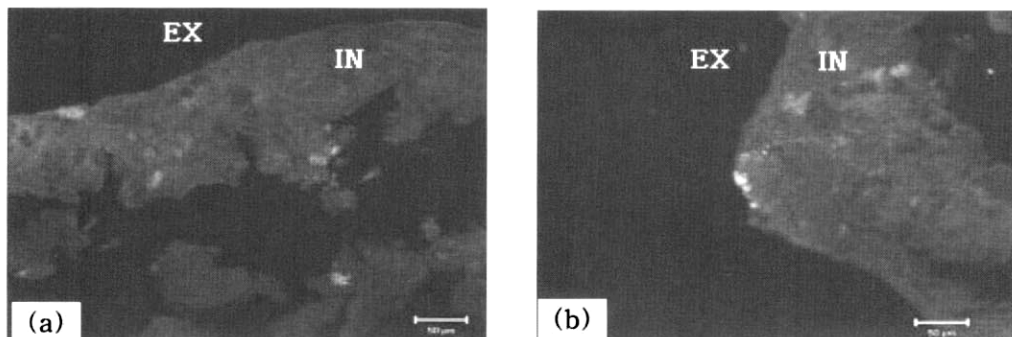


Fig. 6. CLSM of ANAMMOX in granules. (a) *in situ* hybridization with FITC-labelled probe Pla46. Cells of *Planctomycetales* are in green; (b) *in situ* hybridization with FITC-labelled probe Pla46 and CY3-labelled probe Kst1275. Cells of *Planctomycetales* and *Candidatus* “*Kuenenia stuttgartiensis*” are shown in green and red, respectively.

반응조의 대부분의 활성은 *Candidatus Kuennenia stuttgartiensis*에 의한 것이었으며, 산소와의 접촉을 피하고 기질이용에 용이한 입상슬러지의 표면 가까운 내부에 생육하고 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- 김성민, 김성훈, 김인수, 연속회분식 반응기에서 형성된 입상슬러지의 특성 규명, *한국물환경학회/대한상하수도학회 공동추계학술발표회 논문집*, P-92, 코엑스 컨퍼런스센터, 서울, pp. 897-882 (2004).
- 배진연, ADEPT 공정을 이용한 돈사폐수의 처리, 경북대학교 석사학위논문 (2003).
- 윤주환, 장희란, 한종훈, 한혜정, SBR에서 호기성 입상슬러지의 형성, *한국물환경학회지*, **20**(5), pp. 534-538 (2004).
- 이희자, 지재성, 김광수, 안광호, 입상활성슬러지와 활성슬러지의 특성 비교, *한국물환경학회/대한상하수도학회 공동추계학술발표회 논문집*, P-84, 코엑스 컨퍼런스센터, 서울, pp. 847-850 (2004).
- 황인수, 민경석, ANAMMOX 공정을 이용한 돈사폐수의 질소제거 메카니즘, *대한상하수도학회/한국물환경학회 공동추계학술발표회 논문집*, D-4, 대덕컨벤션센터, 대전, pp. D20-23 (2004).
- 황인수, 민경석, 혐기성 슬러지상 반응조를 이용한 돈사폐수의 암모늄제거, *한국물환경학회/대한상하수도학회 공동추계학술발표회 논문집*, D-12, 충주대학교, 충주, pp. 341-344 (2002a).
- 황인수, 안영호, 민경석, 혐기성 슬러지상 반응조를 이용한 돈사폐수의 암모늄제거, *대한토목학회논문집*, **22**(4B), pp. 615-621 (2002b).
- 황인수, 안영호, 민경석, 돈사폐수의 혐기적 질소제거, *대한상하수도학회/한국물환경학회 공동추계학술발표회 논문집*, E-7, 대구컨벤션센터, 대구, pp. E25-27 (2002c).
- Ahn, Y. H., Hwang, I. S. and Min, K. S., ANAMMOX and Partial denitritation in Anaerobic Nitrogen Removal from Piggery Waste, *Wat. Sci. Tech.*, **49**(5-6), pp. 145-153 (2004).
- APHA, WEF and ASCE, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th Eds., Washington DC, USA (1998).
- Beefink, H. H., Anaerobic Bacterial Aggregates, Ph.D. Thesis, University of Amsterdam, The Netherlands (1987).
- Beun, J. J., Hendriks, A., van Loosdrecht, M. C. M., Morgenroth, E., Wilderer, P. A. and Heijnen, J. J., Aerobic Granulation in a Sequencing Batch Reactor, *Wat. Sci. Tech.*, **33**(10), pp. 2283-2290 (1999).
- de Beer, J. J., van den Heuvel, J. C. and Ottengraf, S. P. P., Microelectrode Measurements of the Activity Distribution in Nitrifying Bacteria Aggregates, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**(2), pp. 573-279 (1993).
- Egli, K., Fanger, U., Alvarez, P. J. J., Siegrist, H., van der Meer, J. R. and Zehnder, A. J. B., Enrichment and Characterization of an Anammox Bacterium from a Rotating Biological Contactor Treating Ammonium-rich Leachate, *Arch. Microbiol.*, **175**, pp. 198-207 (2001).
- Hellinga, C., Schellen, A. A. J. C., Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J., The SHARON Process; An Innovative Method for Nitrogen Removal from Ammonium Rich Wastewater, *Wat. Sci. Tech.*, **37**(9), pp. 135-142 (1998).
- Hwang, I. S., Min, K. S., Choi, E. and Yun, Z., Nitrogen Removal from Piggery Waste Using the Combined SHARON and ANAMMOX Reactor, *Proc. of 2004 World Water Congress*, Nitrogen removal II, 19-24 Sep., Marrakech, Morocco (2004b).
- Hwang, I. S., Min, K. S. and Lee, Y. O., Nitrogen Removal from Piggery Wastewater Using ANAMMOX Reactor, *Proc. of Anaerobic Digestion 2004 10th WORLD CONGRESS*, 29 Aug.-2 Sep., Montreal, Canada (2004a).
- Imajo, U., Tokutomi, T. and Furukawa, K., Granulation of Anammox Microorganism in Up-flow Reactors, *Wat. Sci. Tech.*, **49**(5-6), pp. 155-163 (2004).
- Imajo, U., Ishida, H., Fujii, T., Sugino, H., Rouse, J. D. and Furukawa, K., Detection of Anammox Activity from Activated Sludge, *ASIAN WATERQUAL 2001*, Asia-Pacific Regional Conference, Proc. II, Poster Presentation, Sea Hawk hotel & resort, Fukuoka, Japan, Sep. 12-16 (2001).
- Kwok, W. K., Picioreanu, C., Ong, S. L., van Loosdrecht, M. C. M., Ng, W. J. and Heijen, J. J., Influence of Biomass Production and Detachment Forces on Biofilm Structures in a Biofilm Airlift Suspension Reactor, *Biotech. & Bioeng.*, **58**(4), pp. 400-407 (1998).
- Lettinga, G., van Velsen, A. F. M., Hobma, S. W., De Zeeuw, W. and Klapwijk, A., Use of Upflow Sludge Blanket Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, especially for Anaerobic Treatment, *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, pp. 399-734 (1980).
- Lin, Y. F. and Chen, K. C., Denitrification and Methanogenesis in a Co-immobilized Mixed Culture System, *Wat. Res.*, **29**(1), pp. 35-43 (1997).
- Logemann, S., Schantl, J., Bijvank, S., van Loosdrecht, M., Kuenen, J. G. and Jetten, M. S. M., Molecular Microbial Diversity in a Nitrifying Reactor System without Sludge Retention, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **27**, pp. 239-249 (1998).
- Min, K. S., Ahn, Y. H., Hwang, I. S. and Choi, E., Feasibility of Ammonium Removal from Piggery Waste by an Anaerobic Sludge Bed Reactor, *Proc. Animal Residuals 2002 Conference and Workshop*, May 6-8, Washington, USA, pp. 373-386 (2002).
- Morgenroth, E., Sherden, T., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. and Wilderer, P. A., Aerobic Granular Sludge in Sequencing Batch Reactor, *Wat. Res.*, **31**(12), pp. 3191-3194 (1997).
- Muyzer, A., van de Graaf, A. A., Robertson, L. A. and Kuenen, J. G., Anaerobic Ammonium Oxidation Discovered in a Denitrifying Fluidized Reactor, *FEMS Microbiol.*, **59**, pp. 695-700 (1993).
- Neef, A., Amann, R. I., Schlesner, H. and Schleifer, K. H., Monitoring a Widespread Bacterial Group: *In Situ* Detection of Planctomycetes with 16S rRNA-targetted Probes, *Microbiology*, **144**, pp. 3257-3266 (1998).
- Schmid, M., Twachtmann, U., Klein, M., Strous, M., Juretschko, S., Jetten, M. S. M., Metzger, J. W., Schleifer, K. H. and Wagner, M., Molecular Evidence for Genus

- Level Diversity of Bacteria Capable of Catalyzing Anaerobic Ammonium Oxidation, *Syst. Appl. Microbiol.*, **23**, pp. 93-106 (2000).
- Strous, M., Heijnen, J. J., Kuenen, J. G. and Jetten, M. S. M., The Sequencing Batch Reactor as a Powerful Tool for the Study of Slowly Growing Anaerobic Ammonium-oxidizing Microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**, pp. 589-596 (1998).
- Tanaka, Y., Kurosawa, H. and Murakami, H., Ethanol Production from Starch by a Co-immobilized Mixed Culture System of *Aspergillus awamori* and *Zymomonas mobilis*, *Biotechnol. Bioengng.*, **28**, pp. 1761-1768 (1986).
- Tay, J. H., Liu, Q. S. and Liu, Y., The Role of Cellular Polysaccharides in the Formation and Stability of Aerobic Granules, *Lett. Appl. Microbiol.*, **33**, pp. 222-226 (2001).
- van de Graaf, A. A., de Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S. M. and Kuenen, J. G., Autotrophic Growth of Anaerobic Ammonium Oxidizing Microorganism in a Fluidized Bed Reactor, *Microbiology*, **142**, pp. 2187-2196 (1996).
- van de Hoek, J. P., Granulation of Denitrifying Sludge, University of Wageningen, The Netherlands (1988).
- Wang, J. and Kang, J., The Characteristics of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) by Granular Sludge in an EGSB Reactor, *Process Biochemistry*, **40**, pp. 1973-1978 (2005).