

PB10) 바실러스에 의한 중금속 제거 및 EPS 추출물질 비교에 관한 연구

손한형*, 김관수, 이상호
상명대학교 토목환경공학과

1. 서 론

최근의 수질환경규제의 추세는 수질환경기준 설정항목 확대, 강화의 일로에 있는데, 이에 대처하기 위한 산업폐수 배출업체 및 공단 종말 폐수처리장들은 큰 애로를 겪고 있는 실정이다. 특히, 강화되는 수질환경기준은 고도처리에 필요한 처리부지의 확보, 처리장 개조, 새로운 수질항목(예를 들면 중금속, 미량유해물질, 난분해성 물질 등)의 처리를 위한 적절한 처리공정 선정 및 이의 경제적인 처리 등 기업입장에서 수많은 문제들을 만들어내고 있다.

그 중에서 식품산업은 인간과 동물의 삶의 유지에 필수적인 기반 산업으로서 단기적인 수요보다는 지속성이 커서 상기와 같은 문제점들을 해결할 수 있는 효율적인 처리 기술이 개발될 경우, 그 폐수처리기술은 환경 후진국뿐만 아니라 선진국에도 수출할 수 있는 유망 기술이 될 수 있을 것이다. 식품산업폐수의 성상 및 특성을 올바르게 이해하고 기존 처리공정들의 장·단점을 분석하여 장래에 요구될 식품 산업폐수처리에 대비하는 새로운 기술의 개발이 이루어져야 하겠다. 또한 이렇게 개발된 기술은 타 폐수처리를 위한 원천기술의 역할을 하게 될 것이다.

따라서 본 논문에서는 바실러스의 EPS 물질을 추출하고 중금속 제거능력을 알아보고자 한다.

2. 재료 및 실험방법

본 실험에서의 시료는 Bacillus가 포함되어 있는 울산 분뇨처리장과 용인 분뇨처리장, 김천식품폐수 처리장을 이용하였고 천안하수처리장의 시료로 비교분석 하였다.

실험의 정확성을 기하기 위해 울산 분뇨처리장의 슬러지를 3차까지 배양하였다. 그러기 위해서는 액체 배지를 제조해야 하는데 Nutrient Broth 8g을 증류수 1L에 녹이고, autoclave에서 121°C, 15분 동안 멸균한 다음 Bacillus만을 배양하기 위해 미생물 슬러지를 3g(습중량)/500mL(액체배지+무기염료)에 넣고 Bacillus균의 우점화를 위해 75°C에서 10분 동안 stirring 한다. 그런 다음 Shaking Incubator에서 다음 배양조건을 적용하여 1차 농화배양을 하였다.

2차 배양은 1차 농화배양액 50mL를 배지에 넣고 1차 농화배양과 같은 조건에서 2차 농화배양하였으며 3차 배양은 2차 농화배양액 50mL를 같은 배지 500mL에 넣고 같은 배양 조건으로 3차 농화배양을 실시하였고, 3차 농화배양액을 이용하여 EPS 물질을 추출하였다.

Table 2.1. 배양 조건

temp.	37°C
rpm	200rpm
time	24hr
culture media	Nutrient broth + (인삼염인 완충용액, CaCl ₂ , FeCl ₃ , MgSO ₄)

포자화 방법은 3차 농화배양액을 80°C에 10분 동안 가열한 후 배양조건과 동일한 상태로 24hr 더 교반하였다.

EPS 추출은 세 가지 추출방법인 EDTA Extraction, Steaming Extraction, Regular Centrifugation with Formaldehyde(RCF법) 이용하였으며 EPS양은 대표적인 구성물질인 Protein과 Carbohydrate의 함량을 나타내었다. Protein의 함량은 동결건조, 원심분리 후 Warburg-Christian method에 의해 분석하였으며, Carbohydrate의 함량은 슬러지를 동결 건조한 후 페놀황산법으로 분석하였다.

Bacillus에 의한 중금속 흡착능을 알아보기 위해 Cu 농도가 0.05ppm인 용액과 포자화 전 후 미생물에서 추출한 EPS 구성 물질을 이용하여 Cu의 제거정도를 비교하였다.

Cu 응집 및 흡착실험은 0.05ppm의 Cu 표준용액 20mL에 포자화 전 후 배양 Sample에서 추출한 EPS 물질 10mL을 주입하고 교반 후 침전시켜 0.45µm membrane Filter로 여과한 후 원자흡광광도법을 적용하여 Cu 농도를 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 울산 분뇨처리장 슬러지의 EPS 추출 및 중금속 흡착 실험

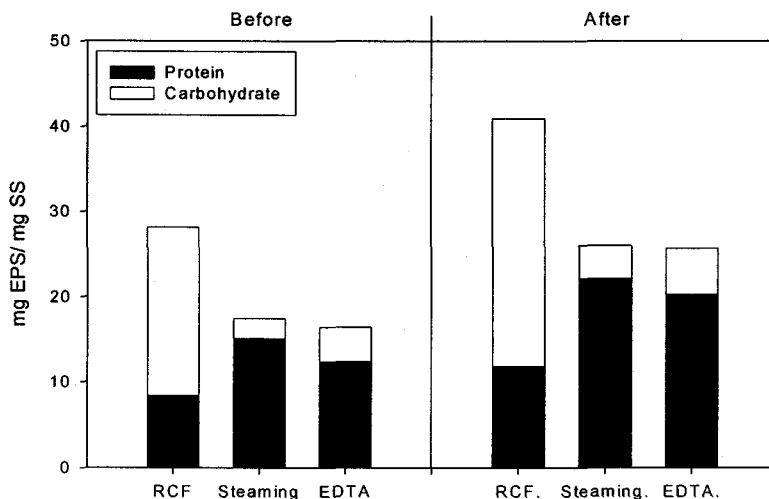


Fig. 3.1. 포자화 전 후 세가지 추출 방법에 의한 EPS 구성물질 비교.

1) 포자화 전 후 배양 Sample의 추출된 EPS를 이용한 중금속 응집, 흡착실험

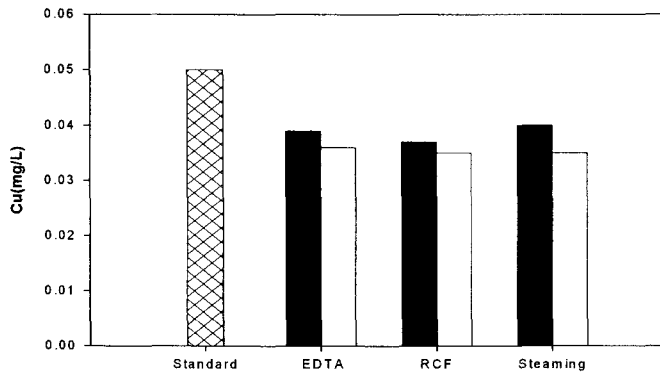


Fig. 3.2. 포자화 전 후 배양 Sample의 추출된 EPS를 이용한 Cu의 농도.

■ 포자화 전, □ 포자화 후 EPS에 의해 제거되고 남은 Cu농도

3.2. 김천 식품폐수 처리장과 천안하수처리장의 EPS 추출물질 및 비교분석

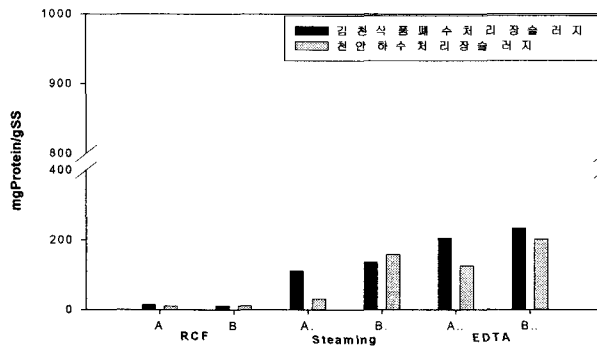


Fig. 3.3. 김천 식품폐수 처리장과 천안하수처리장의 추출된 EPS의 단백질 함량.

(A : 폭기조 슬러지, B : 반송슬러지)

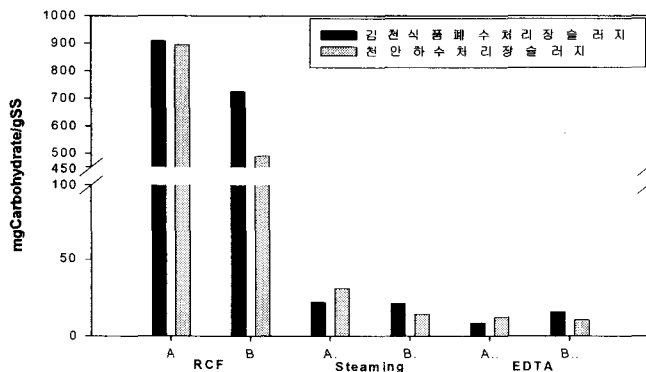


Fig. 3.4. 김천 식품폐수 처리장과 천안하수처리장의 추출된 EPS의 탄수화물 함량.

(A : 폭기조 슬러지, B : 반송슬러지)

4. 요약

1) 바실러스는 불리한 환경조건에서 포자를 형성하며 포자는 균체가 죽어도 살아 남고, 외부 환경이 좋아지면 다시 발아하여 영양형 균체를 형성하게 된다. 본 연구에서 바실러스를 우점화와 포자의 활성화를 위해 열처리(80°C, 10min)를 한다. 울산분뇨처리장 슬러지 Cake를 배양하여 포자화 전 후 상태의 미생물의 EPS 추출결과 RCF법을 적용하였을 때 Carbohydrate 물질이 다른 추출법에 비해 가장 많이 추출되었고, Steaming extraction법을 적용하였을 때 Protein이 가장 많이 추출되는 것으로 나타났으며, 포자화 전 보다 포자화 후의 EPS 양이 더 많이 추출될 것이라는 가설을 가지고 실험한 결과 포자화 전보다 포자화 후의 EPS 양이 더 많이 추출되었다.

울산분뇨처리장의 슬러지 Cake를 배양하여 포자화 전 후의 Cu의 제거정도를 비교한 결과 포자화 후의 EPS 물질이 포자화 전의 EPS 물질보다 Cu를 더 많이 제거하는 것으로 나타났으며 EPS 물질이 중금속 제거능력이 탁월하다고 할 수 있겠다.

2) 용인분뇨처리장과 천안하수처리장의 MLSS의 중금속 제거능력을 알아보기 위해 미생물량을 고려했을 경우와 미생물량을 고려하지 않은 경우로 나누어서 실험을 하였는데 울산분뇨처리장의 슬러지 Cake를 가지고 실험한 결과와 마찬가지로 *Bacillus*의 EPS 물질이 중금속 제거에 탁월하다는 것을 알 수 있다.

3) *Bacillus*를 사용하는 김천 식품폐수 처리장과 활성슬러지를 사용하는 천안하수처리장과의 EPS 함량을 비교한 결과 김천 식품폐수 처리장의 EPS 물질중 Protein과 Carbohydrate가 천안하수처리장의 활성슬러지보다 더 많은 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 박홍래, 2003, 바실러스를 이용한 하수처리 공정에서 총대장균군 제거 특성에 관한 연구, 홍익대학교.
- 정선호, 2002, 분리 균주 *Bacillus sp.G31*로부터 생물응집제의 생산 및 특성, 충남대학교.
- 환경부, 2003, 망상형 회전식 바실러스 접촉장치 (RABC)를 이용한 하수고도처리공법.
- J. K. Lee, 2003, Effect of environmental stresses on cells of *Bacillus subtilis*, University of Nottingham Sutton Bonington Campus.
- H. S. Shin, 2000, Effect of Carbohydrate to Protein Ratio in EPS on Sludge Settling Characteristics, Biotechnol. Bioprocess. Eng., 5, 460-464.
- H. Evenblij and J. H. J. M. van der Graaf, 2004, Occurrence of EPS in activated sludge from a membrane bioreactor treating municipal wastewater, Water Science and Technology, 50(12), 293-300
- Xiaoqi Zhang and Paul L. Bishop, 2003, Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances, Elsevier Science Chemosphere, 50, 63-69.
- Xiaoqi Zhang, Paul L. Bishop, and Brian, K. Linkle, 1999, Comparison of extraction method for quantifying extracellular polymers in biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, 39(7), 211-218.

- Chrysi, S. Laspiedou and Bruce, E. Rittmann, 2002, A unified theory for extracellular polymeric substance, soluble microbial products, and active and inert biomass, *Water Research* 36, 2711-2720.
- S. P. Vijayalakshmi and A. M. Raichur, 2003, The utility of *Bacillus subtilis* as a bioflocculant for fine coal, Elsevier Science Colloids and Surfaces: Biointerfaces, 29, 265-275.
- Bastiaan P. Krom¹, Henry Huttinga¹, Jessica B. Warner¹ and Juke S. Lolkema¹, 2002, Impact of the Mg²⁺-citrate transporter CitM on heavy metal toxicity in *Bacillus subtilis*, *Archives of Microbiology*, DOI 10.1007/ss00203-002-0465-8.
- Urbain, V., Block, J. C. and Manem, J., 2003, Bioflocculation in Activated Sludge: an Analytic Approach, *Water Res.*, 27(5), 829-838.
- Liss, S. N., Droppo, I. G., Flannigan, D. T. and Leppard, G. G., 1996, Flocarchitecture in Wastewater and Natural Riverine System, *Environ. Sci. Technol.*, 30(2), 680-686.
- Chao, A. C. and Keinath, T. M., 1979, Influence of process Loading Intensity on Sludge Clarification and Thickening Characteristics, *Water Res.*, 13(12), 1213-1220.
- Goodwin, J. A. S. and Forster, C. F., 1985, A further Examination into Composition of Activated Sludge Surface in relation to their Settlement Characteristics, *Water Res.*, 19(4), 527-533.
- Per Halkjaer Nielsen, Andreas Jahn and Rikke Palmgren, 1997, Conceptual Model For Production And Composition Of Exopolymers In Biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, 36(1), 11-19.