

PF11)      나선형 끈상 메디아의 시간에 따른 바실러스  
                미생물 부착량 변화에 관한 연구

김판수\*, 손한형, 이상호, 박성순<sup>1</sup>

상명대학교 토목환경공학과, <sup>1</sup>신강하이텍(주)

## 1. 서 론

도시 및 산업체의 하·폐수를 처리하는데 있어서 미생물을 이용한 공법들이 많이 사용되고 있다. 미생물을 이용한 하·폐수 처리 공법은 크게는 부유성장과 부착성장 반응 공법으로 분류할 수 있다. 부유성장 공법은 대표적인 활성슬러지 공법처럼 반응조 내에서 미생물이 처리할 폐수와 혼합되어 움직임이 자유로운 상태를 유지하는 것이다. 활성슬러지 공법과 같은 부유성장 공정은 강한 폭기를 위한 전력소모비 등 유지관리비가 높고, 유입원수의 수질과 수량 변동에 대한 부하가 약하여 운전상의 주의가 요구된다. 또한 전체 공정이 소요하는 부지가 막대한 단점이 있다. 이와 대조되어 살수여상이나 회전생물접촉법(RBC)과 같이 미생물을 폐수 내에서 고정시켜 생물막을 이용하여 폐수를 처리하는 공법으로서 널리 적용되고 있다. 생물막을 이용하는 부착성장 공법은 활성슬러지 공법과 비교하여 상대적으로 적은 유지 관리비와 넓지 않은 부지가 소요되는 장점이 있다. 또한 부착하는 미생물을 선택하여 미생물 특정 종의 우점화를 유도하여 짧은 체류시간에 더 높은 제거효율을 기대할 수 있다.

본 연구에서는 미생물 중 호기성 그람 양성 균인 바실러스를 우점화 하여 유입수의 유기 물 농도에 따른 바실러스의 메디아 부착량을 조사하여 이후 적용될 공법 설계에 적용하고자 실행하였다.

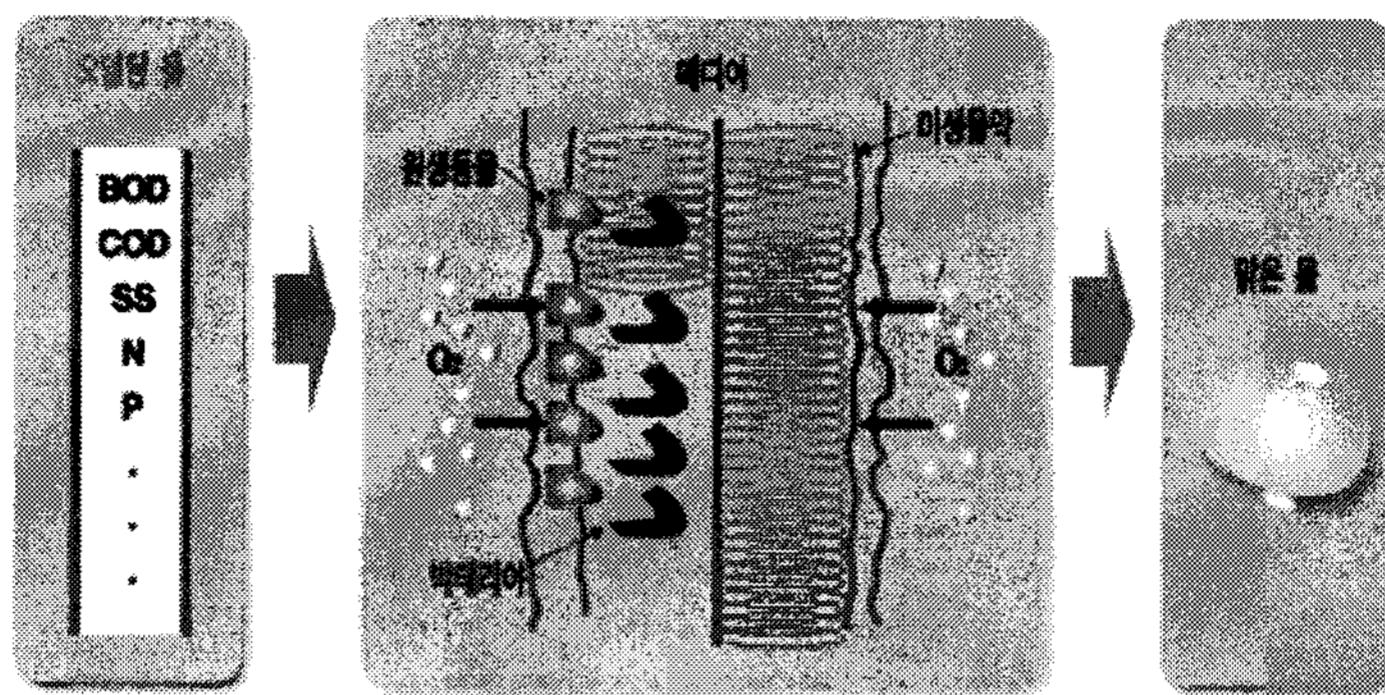
### 1.1. 바실러스균의 특징

그람양성의 바실러스균의 가장 큰 특징은 극한 상황에서 내생포자를 형성하는 것이다. 바실러스균의 영양세포는 주변 환경이 생장하는데 열악하게 되면 내생포자로 변화하는데 이 형성된 내생포자는 제한된 환경속에서도 생물체가 오랜 기간 동안 생존할 수 있게 하는 휴면구조이다. Agar에서 배양된 바실러스 군집은 세포 바깥으로 분비되는 세포외중합체(EPS, extracellular polymeric substance)의 영향으로 다양한 모습을 형성하기 때문에 육안으로도 다른 세균과 쉽게 구별할 수 있다. 또한 바실러스는 포자, 발아, 증식, 분열, 포자를 반복시켜 우점화시킬 수 있다. 영양분이 충만할 때 포자에서 발아 초기 단계에서 바실러스는 사상체 형태이며, 세균 증식에 의해 개체수가 증가하면 영양분의 부족으로 그 사상체가 해체되고 분열된다. 균열된 균체는 이러한 극한 상황에서 포자를 형성하게 되고 다시 생존에 적합한 환경이 되면 발아하여 새로운 바실러스균으로 활동하게 된다.

### 1.2. 끈상 나선형 메디아

부착성장 공법에서 미생물 막의 양을 늘리고 짧은 체류시간에 높은 처리효율을 도출하기

위하여 미생물이 잘 부착할 수 있는 메디아를 사용한다. 미생물 접촉 메디아를 이용한 오염물질의 처리 원리는 Fig.1에서와 같이 정화 원리의 핵심은 미생물에 의한 오염물질의 산화·분해에 있으며, 이 과정에 관여하는 미생물은 박테리아, 곰팡이, 원생동물, 후생동물 등이 있다.



출처 : <http://www.sinkanghitec.co.kr>

Fig. 1. 끈상 나선형 메디아를 이용한 미생물 접촉산화 원리 모식도

또한 미생물에 의한 유기물의 산화분해작용 이외에 무기성 SS성분이 메디아에 충돌하여 하부로 침전되는 부수적인 정화기작을 가진다. 끈상 나선형 메디아를 일정한 간격으로 조밀하게 설치하면, 메디아 사이를 통과하는 고형물은 메디아에 의해 단락의 방지 및 정류효과에 의해 메디아가 설치되지 않는 경우에 비해 효율적으로 중력침강하게 된다. 또한 끈상메디아의 관성력에 의해 직접충돌하여 침강하기도 한다. 그리고 메디아 부분의 복잡한 유속분포에 의해 고형물은 충돌 또는 응집침강하게 되어 효율적인 고액분리가 이루어진다.

## 2. 실험방법 및 재료

### 2.1. 바실러스 배양 방법

#### 2.1.1. 배양

500mL 삼각 플라스크에 Tryptic Soy Agar 20g, NaCl 0.25g, MgSO<sub>4</sub> 0.15g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.5g을 주입하고 알콜 램프로 가열 하여 Agar가 완전히 녹은 것을 확인한다. 그 후 Autoclave에서 105°C 30min 멸균하고 멸균한 Agar를 petri dish 높이의 1/2선까지 주입하고 24hr 동안 건조하여 배지를 제조한다. 바실러스만을 배양하기 위하여 바실러스 우점화가 확인된 'W' 시 분뇨처리장의 건조슬러지를 이용하여 바실러스를 배양한다. 건조슬러지에서 바실러스 이외의 미생물을 멸균하기 위해 70~80°C 수욕상에서 40min 이상 가열한 후 그 상등액을 완전히 굳은 Agar가 있는 petri dish에 시료 1적 주입한다. 마지막으로 바실러스가 Agar에서 잘 성장할 수 있도록 Incubator 37.5°C에서 petri dish를 뒤집어서 24hr 배양한다.

평판에서 배양된 바실러스를 대량으로 증식하기 위하여 액체배양을 실시하였다. 배지는 Nutrient Broth (8g/L, Autoclave 121°C, 15min 멸균)를 이용하였고 그 외 무기영양분을 평판배양과 동일한 양으로 주입하였다. petri dish에 배양한 바실러스를 Loop를 이용하여 500mL (N.B+무기염료)에 주입 후 수욕상 85°C에서 40 min 동안 가열하였다. 그 시료를

Shaking incubator(37°C, 200 rpm, 24 hr)에서 1차 배양을 실시하였고, 1차 배양액 50mL를 동일한 성분의 새로운 액체 배지에 넣고 1차 배양과 동일한 조건에서 2차 배양을 하였다. 마지막으로 2차 배양액 50mL를 액체 배지에 넣고 동일한 조건으로 3차 배양을 실시하였다. 그 후 대량으로 바실러스를 배양하기 위하여 3차까지 농화배양된 시료를 5L N.B배지에 혼합하여 상온에서 DO 4~5 mg/L로 유지하며 배양하였다.

## 2.2. 끈상 나선형 메디아 부착능 실험 장치

끈상 나선형 메디아의 유기물 농도별 바실러스의 부착량을 알기 위하여 배양조를 제작하였다. Fig. 2의 반응기모식도에서와 같이 투명한 아크릴 재질을 사용하여 반응기 상단에는 산기기와 교반기를 설치하여 반응 조 내에서 산소와 바실러스의 접촉을 원활하게 하였고, 산기기와 교반기의 움직임으로부터 메디아를 고정시키기 위해 반응기 상단으로부터 각각 7cm, 35cm 되는 지점에 철사를 이용하여, 메디아를 고정할 수 있는 거치대를 설치하였다.

반응기 유효면적은 18L이고, 설치한 끈상 나선형 메디아는 25cm로 절단하여 15개를 설치하였다.

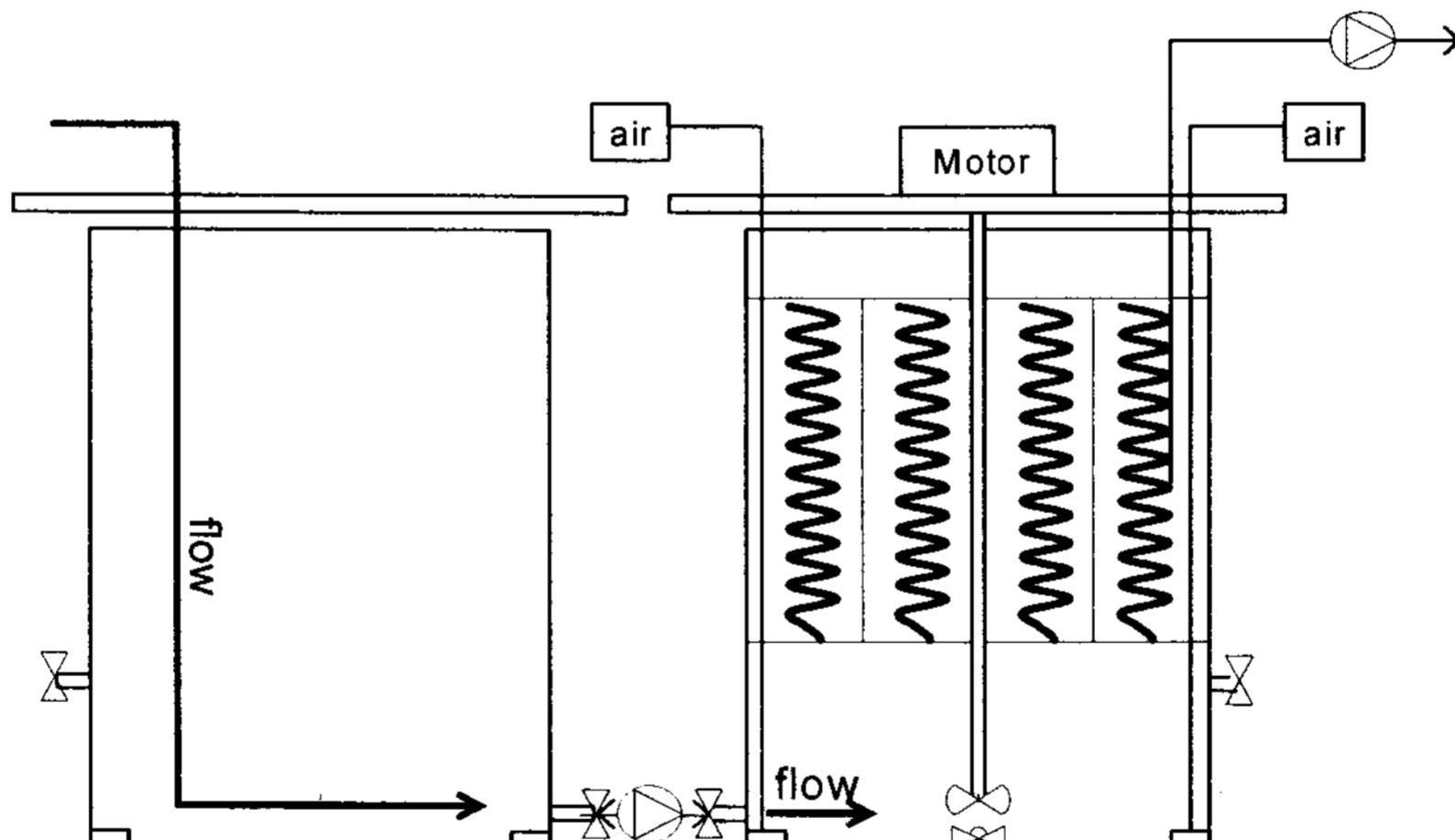


Fig 2. 끈상 나선형 메디아 부착능 실험 반응기 모식도

## 2.3. 실험 방법 및 분석

운전조건은 반응조 내 DO는 4~5mg/L로, 교반 속도는 45 rpm, 체류시간 1시간 30분, 시료의 수온은 상온(23~25°C)과 동일하게 유지하며 실시하였다. 끈상 나선형 메디아의 바실러스 부착량을 알아보기 위하여 인공폐수를 제조하여 실험을 진행하였다. 분석항목은 COD<sub>Cr</sub>를 기준으로 300mg/L로 제조하였으며, 유입수(COD<sub>Cr</sub>) 및 메디아에 부착된 미생물 양 (g/m<sup>2</sup>)을 1일 3회 분석하여 그 평균값을 1일 분석 결과로 결정하였다.

미생물 부착량을 분석하기 앞서 원수로 사용된 재료인 Nutrient Broth 자체의 SS(mg/L) 결과를 분석하였다. 또한 메디아에 부착된 미생물 양을 분석하기 위하여 반응조 내에 일정한 길이(20cm, 15개)로 설치한 끈상 나선형 메디아를 수거하여 메디아의 젖은 중량과 105°C에서 완전 건조한 후의 중량을 측정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 농도별 Nutrient Broth의 SS 결과

본 연구에서 원수로 사용된 N.B의 COD<sub>Cr</sub>과 SS의 차이는 Table 1.에서와 같이 N.B의 주입량이 1g/L, 2g/L, 4g/L일때 SS가 모두 0 mg/L로 측정되었다.

Table 1. Nutrient Broth 주입량에 대한 SS(mg/L) 영향

N.B 주입량 (g/L)	SS (mg/L)
1	0
2	0
4	0
8	0.01
16	0.06
32	0.531
48	0.855
64	1.188

#### 3.2 부착미생물량 측정

Nutrient Broth를 COD<sub>Cr</sub> 300mg/L로 제조하여 실시한 실험에서 끈상 나선형 메디아의 바실러스 부착량은 Fig 3.에서와 같이 나타낼 수 있다. 반응 개시 후 2일에서 3일 사이에 가장 빠른 속도로 부착되었고 15일에 가장 많은 양의 미생물이 부착되었다.

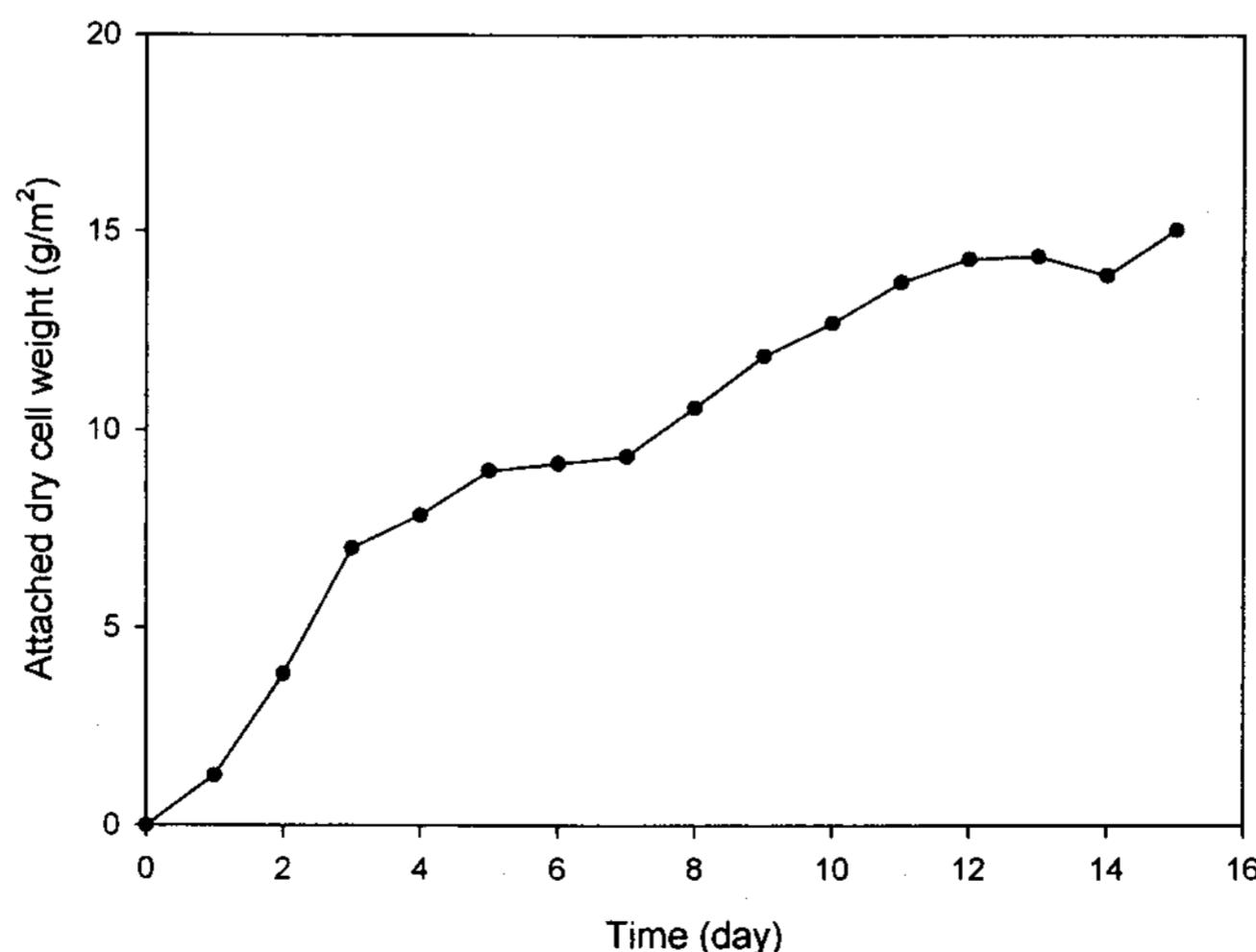


Fig. 3 시간에 따른 미생물 부착량의 변화

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신 인력양성 사업의 지원으로 수행되었기에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 환경부, 2005. 고농도 식품 산업폐수 고효율·집적형 처리기술개발.
- 최명섭, 손인식, 2003. RBC 반응조를 이용한 2단 A/O 공정에서 유기물질 및 질소제거, 한국환경위생학회지, 제29권, 제3호, pp. 59-64.
- 김학용, 2000. 끈상 접촉여재를 이용한 하천정화 방안, 아주대학교 산업대학원 환경공학과 석사학위 논문.
- 양대창, 김지현, 유영제, 1996. 화학적 변형에 의한 활성오니 고정화용 담체 개발, J. of the Korean Institute of Chemical Engineers, 35, 1, pp. 129-143.
- Vijayalalshmi, S.P. and Raichur, A.M, 2003. The utility of *Bacillus subtilis* as a bio-flocculant for fine coal, Colloid and Surfaces, Biointerfaces 29, pp. 265-275.
- Cheetham, P. S. J. and Buke, C., 1984. Immobilization of microbial cells and their use in wastewater treatment, Microbiological Method for Environ. Biotechnol., pp. 219-234.
- Liss, S. N., Droppo, I. G., Flannigan, D. T. and Leppard, G. G., 1996. Flocarchitecture in Wastewater and Natural Riverine System, Environ. Sci. Technol. 32, 2, pp. 680-686.
- Chrysi S. Laspidou, and Bruce E. Rittmann, 2002. A unified theory for extracellular polymeric substance, soluble microbial products, and active and inert biomass, Water Research 36, pp. 2711-2720.