

PAC 및 PAS 첨가에 따른 상업용 액상 종균제의 총균수 변화에 관한 연구

박미자 · 박경식* · 김승재**

동양과학 주식회사 · 동강대학 보건환경정보과* · 전남대학교 환경공학과**

A study on the total cell count variation of commercial liquid seed by adding PAC and PAS

Mi Ja Park · Kyung Sik Park* · Seung Jai Kim**

Dongyang Scientific Inc.,

*Department of Hygienic & Environmental Sci., Dongkang College**

*Department of Environmental Engineering, Chonnam National University***

Abstract

Commercial liquid seeds are used for supplying active microbial flora to organic wastewater treatment plants of high feed-to-microorganism ratio and to maintain optimal microbial condition during unsteady state operation of the biological wastewater treatment plant.

In addition to bacterial cells, the liquid seeds contain various additives for special purposes as well as organic substrates for energy supply. The additives give physical stability for the maintenance of microbial decomposition activity and ability to control the overgrowth of seed strains.

In this work, the effects of addition of two kinds of typical substrate additives, poly aluminum chloride(PAC) and poly aluminum sulfate(PAS) on the constitutional total cell counts(CFU/ml) of four kinds of reorganization liquid seeds(RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV) were studied experimentally.

The addition of PAC and PAS gave negative effect on TCC constitution for the four seeds studied.

Key words : Commercial liquid seed, additives, PAC, PAS, total cell count

I. 서 론

종균제(Seeds)란, 활성오니처리 방식의 생물학적 폐수처리 공정 중에서 폭기반응조내 활성미생물의 역가 하락을 회복시키고 산업폐수 및 오수내의 주

요 유기오염 성분을 효과적으로 제거할 목적으로 그에 부합하는 미생물을 분리, 재구성하여 만든 혼합 미생물 제제(製劑)이다. 또한 상업적 종균제는 미생물 역가 하락시에 흔히 취해 오던 「생물능력 향상(Bio-augmentation)방법」¹⁻⁴⁾의 상업적 적용

이라 할 수 있으며, 분말상, 액상 및 반고형상 등의 형태로 생산 공급되고 있다⁵⁾.

현재 우리나라에서 주로 유통되는 범용(凡用) 종균제는 대부분의 유기폐수에 일정수준의 성과를 올릴 수 있도록 고안된 반면, 과도한 생산원가 부담과 과잉의 불용 균주 군에 의한 부정적 요인도 적지 않게 내재하고 있는 실정이다⁶⁾. 따라서, 최근 들어 점차 뚜렷한 선택적 종균제로 생산패턴의 변화가 일어나고 있는데 이는 매우 바람직한 변화로 보인다.

그러나, 여전히 극복해야 할 과제는, 종균제의 생산이후 소비 시점까지의 일관된 유기물 분해력 (Analytical Activity)과 안정적 유효 총균수(Total Cell Count)의 유지이다.

Zeolite, Anthracite, PAC, PAS, PASS, CMC, Na-Alginate, Buffer material, EDTA, Activated carbon, Powdered anaerobic sludge 및 Chitosan 과 같은 첨가물들은 이러한 과제들에 대해 상업적 대응수단으로 고안된 것들로서, 상업용 배지나 배양 결과물에 부가되어 사용되고 있는데, 이는 일관된 품질의 유지가 어려운 상업용 종균제의 유통과 사용여건에 적합한 종균제 생산형태의 변화로 보인다.⁵⁾ 근래에 이르러 이들 첨가물들은 점차 미생물 활성 분해력의 유지라는 첨가목적을 넘어 폐수 내 완충능력 부여⁷⁾, 알카리도의 유지⁷⁾, 침강성의 증가, 유해 이온과 잉여 MLSS의 흡착제거⁸⁻¹⁰⁾ 및 floc 형성 능력 강화 등의 첨가목적으로 조금씩 변화되는 경향이다. 그러나 이러한 기질 첨가물들은 첨가 의도와는 매우 다른 결과를 가져오는 경우도 있어서, 많은 연구의 축적이 필요하다.^{1, 5)}

본 연구에서는 상업용 액상 종균제의 유용 총균수 감소에 의한 제품가치 하락의 주요한 원인의 하나로 지적되고 있는 「부적절한 기질 첨가물 사용」에 주목하여 대표적 무기고분자 첨가물 2종에 대해 「기질 첨가물」의 종류와 첨가농도가 저장 기간별로 종균제의 총 균수 재현에 어떠한 결과를 나타내는지를 연구함으로써 장차 새로이 개발되는 상업용 종균제의 기질 및 기질 첨가물의 구성과, 실은 저장 조건에서의 유효 기간의 설정 등에 관한 기초자료를 얻기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 종균제의 구성

1.1 상업용 액상 종균제의 선택

공시 종균제 구성용 모 균주를 분리하기 위하여 Table 1.에 수록된 것과 같이 시판 중인 상업용 액상 종균제 4종을 선택하였다. 종균제는 모두 생산 이후 3일 이내의 것으로 하였으며, 구입 즉시 휴대용 Ice Box(냉장온도 5~6°C)에 넣어 운반하고, 5°C이하의 냉장고에 보관하며 실험하였다. 실험 과정에서 4종의 각 상업용 종균제는 편의상 CLS I, CLS II, CLS III, CLS IV로 표기하였다.

1.2 균주의 분리, 배양 및 보관

1.2.1 균주분리용 회석액의 제조¹¹⁾

CLS I ~CLS IV로부터 무균적으로 각각 5ml의 액상 종균제를 멸균 Test tube에 취해 Vortex mixer(Thermolyne, M37600, U.S.A)로 균질화하고 (Homogenizing), 15분간 정치한 후 멸균 tip을 장착한 micro pipette (Eppendorf, Germany)을 이용하여 정확히 1ml를 취해, 회석용 멸균액 (phosphate buffer solution) 9ml와 혼합하므로써, 10배 희석된 균질액을 제조한다¹²⁾. 이러한 10진 희석 방식의 희석과 균질화과정을 반복하여 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 및 10^8 배 희석액을 만들어 균주 조분리용 회석액으로 사용하였다.

1.2.2 균주의 조분리

준비된 10^4 ~ 10^8 배의 균주회석액을 멸균 micro pipette으로 정확히 0.1ml를 취하여, 멸균후 45°C 전후로 유지되고 있는 0.9% agar의 Plate Count Agar¹³⁾의 비용고 배지에 천천히 붓고, 가볍게 섞은 후 방냉, 고화시켜 30°C의 Incubator내에서 72hrs 배양하였다. 이러한 Pour plate method 방식¹²⁾의 접종으로 차후 순수분리 과정에서의 Colony 선택성을 높이기 위하여 각각 3 petri dish씩 실시하였다.

1.2.3 균주의 순수분리 및 보관

조분리의 실험에서 얻은, 각 종균제별 15개씩의 petri dish안에 형성된 Colony들 중 타 Colony와 뚜렷한 차이점을 보이는 Colony에 대해 1.5% agar

Table 1. Characteristics of 4 commercial liquid seeds(CLS) for isolation of mother strains

	CLS I	CLS II	CLS III	CLS IV
Form	Liquid	Liquid	Dilute gel	Liquid
S.G.	1.02	1.04	1.08	1.02
Color	Weak yellow	Lemon yellow	Dim white	Dim brown
Odour	Fermentativeness	Sourness	Weak sourness	Uniqueness
FP(°C)*	0	0	-2	0

*Freezing point(°C)

의 Plate Count Agar 배지¹³⁾에 순수분리를 실시하였다. 4종의 CLS별로 순수분리된 균주의 숫자는 Table 2와 같았다.

순수분리용 배지로는 멸균 후 Slanting 하여 냉각 고화시킨 반경사배지를 이용하였으며, 백금이로써 Streak & Stab 방식으로 복합접종하여 30°C에서 48시간 배양후 냉장고에 보관하며 사용하였고, 별도로 타균 오염 등에 대비하여 순수분리된 균주들은 각각 집적배양(Enrichment culture)한 후, Glycerol로 증충하여 -70°C의 Deep freezer (SANYO, Ultra Low MDF-292 /AT, Japan)에서 냉동보관하였다¹⁴⁾.

1.3 공시 종균제용 배지 조성

Table 2의 분리균주를 공시 종균제로써 재현하기 위하여 시판 상업용 종균제 제조용 구성기질에

최대한 근접하는 Bulk culture type 배지를 조성하였으며 그 조성 및 구성과정은 Table 3과 같다.

Table 2. Enumeration of the number of isolated strains from commercial liquid seeds(CLS)

CLS	The Number of isolated strains
CLS I	14
CLS II	22
CLS III	8
CLS IV	18

1.4 공시 종균제의 배양과 배양조건

Table 2의 각 균주들을 모균주로 하여 각각 기질 첨가물이 제거된 실험용 공시 종균제로 재구성 (Fig. 1)하였으며, 이를 RLS(Reorganization liquid

Table 3. Composition and preparation of the reconstitution commercial bulk culture medium* for common experiments

Components	Quantity(g,ml)	Preparation
Casein(Water soluble)	10	- Add components to deionized city water and bring volume to 1.0L. Mix thoroughly. Gently heat and bring to boiling. Sterilization for 30min at 100°C. Inoculation after cooling to 30°C. - 1M Trizma buffer solution. · Trishydroxy methyl amino methane: 60.5g · CaCl ₂ anhydrous : 55.5g · HCl(12N) : 41ml
Peptone	3	
Yeast extract	1	
Beef extract	0.8	
1M Trizma buffer solu.	50	

* Final pH 7.0±0.2 at 25°C

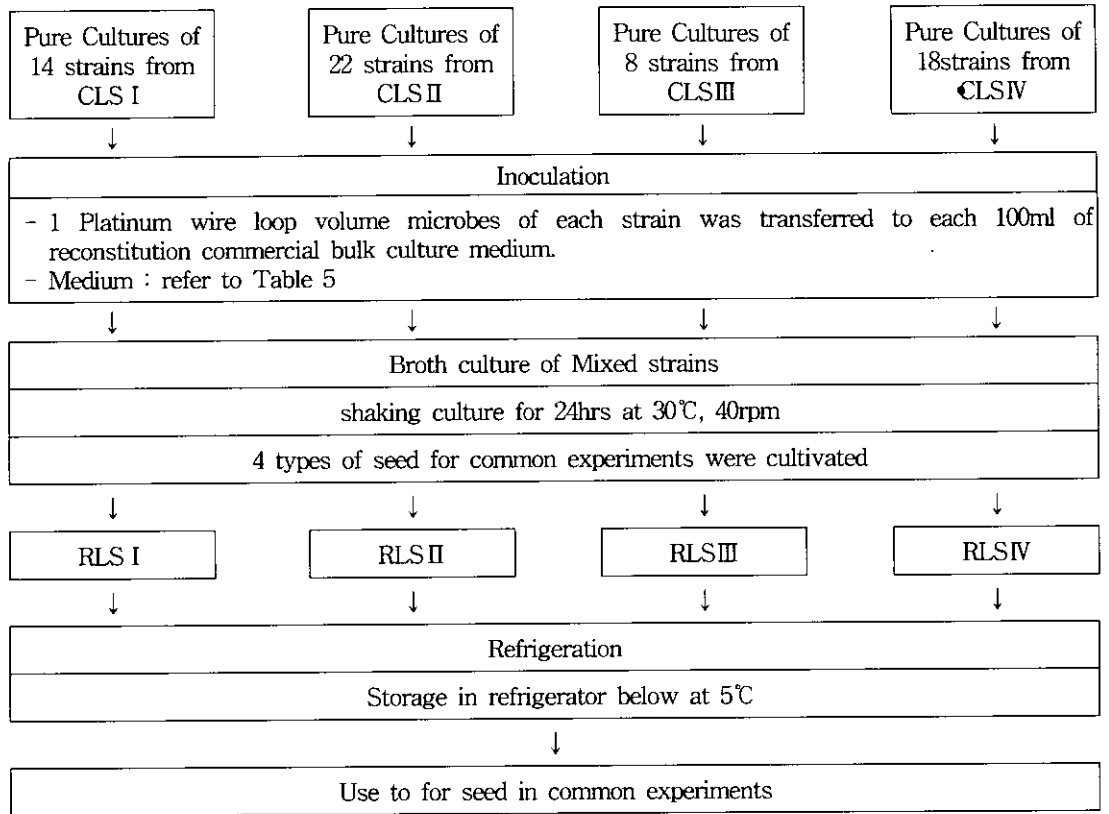


Fig. 1. Reorganization procedure and cultural conditions of RLS

Table 4. Characteristics of two substrate additives selected

Item	Additives	PAC* ¹	PAS* ²
S.G.(20°C)		1.2	1.2
Chemical formula		[Al ₂ (OH) ₃ Cl ₃] _m	[Al ₂ (OH) ₅] ₂ SO ₄
Alkalinity(%)		50	20
pH(1W/V% solu.)		4.8	3.5
Classification		Inorganic polymer	Inorganic polymer
Appearance		Colorless and transparency	lemon yellow and transparency
Product form		Concentrated solution	Concentrated solution
Manufacturer		SGC(korea)	YH(korea)

*1) Poly Aluminum Chloride *2) Poly Aluminum Sulfate

seed)로 통칭하고, CLS I, CLS II, CLS III 및 CLS IV로부터 재구성하여 만든 공시 종균제를 각각 RLS I, RLS II, RLS III 및 RLS IV로 표기하였다.

2. PAC, PAS의 첨가와 혼합

2.1 PAC, PAS의 선정

기질 첨가물은 Table 4에 정리한 바와 같은 내용의 PAC 및 PAS를 사용하였다.

본 실험에서는 상업용 종균제의 생산에서 흔히 활용하는 기질 첨가물의 첨가형태를 따라 PAC, PAS 모두 0.5%(v/v) 희석액을 사용하였다.

2.2 첨가농도의 설정

PAC, PAS의 기질에 대한 첨가농도는, 상업용 액상 종균제 제조시 사용하는 통상적 첨가수준인 기준농도를 중심으로 5개의 농도로 설정하였다. 즉, 기준농도인 2.5v/v% (125ppm)을 중심으로 1.5 (75ppm), 2.0(100ppm), 2.5(125ppm), 3.0(150ppm), 3.5%(175ppm) (v/v)로 설정하였다.

2.3 기질 첨가물의 첨가 및 혼합

농도별 PAC, PAS를 1.4항의 방법으로 배양을 마친 4종의 공시 종균제 배양액 100ml에 다음의 순서대로 첨가 용해시켰다.

- (1) 공시 종균제 100ml 배양액이 담긴 200ml Erlenmeyer flask의 면전을 개봉하고, 무균상태로 멸균된 Ceramic coating magnetic bar를 투입한 후, 면전을 화염멸봉한다.
- (2) Magnetic stirrer(Thermolyne, S45700, U.S.A)를 작동중인 Clean bench내에 설치하고, 50℃, 80rpm으로 세팅하여 작동시킨다(magnetic bar의 회전속도는 상황에 따라 임의 조절한다).
- (3) Magnetic bar가 담긴 공시 종균제 배양액을 Magnetic Stirrer 위에 설치하고 내용물을 혼합 가운한다.
- (4) Erlenmeyer flask 내의 공시 종균제 배양액이 45℃에 이르르면,¹⁵⁾ 다시 면전을 개봉하고 미리 2,300A 파장의 UV등 아래에서 15초간 유통시키면서 살균한 PAC, PAS 각 0.5% 수용액을

계획된 농도량 만큼 멸균 pipette을 사용하여 첨가 후, 용해시킨다.

- (5) 용해가 완료되면 전원을 차단하고 투입했던 Magnetic bar를 무균적으로 회수하고, 개봉했던 면전을 다시 화염상에서 밀봉한 후 저장기간을 명확히 기재한 Label을 부착하여 2.5항의 내용대로 저장한다. 저장에 들어가기 전에 공시종균제가 담긴 flask를 Vortex Mixer에서 충분히 Mixing해 준다.

2.4 대조구의 설정

공시종균제 RLS I ~RLSIV(1.4항)에 대해 「PAC, PAS」 만을 배제한 실험구획을 병행하여 대조구(Control)로 삼았다. 대조구를 위한 배양은 Fig. 1의 과정으로 실시하였고, 공시 종균제별로 2.5항에서 설정한 4구획의 저장기간에 맞춰 각 4개씩의 배양물을 100ml씩 배양하였다.

2.5 공시 종균제의 저장온도 및 기간 설정

모든 실험 구획별 공시 종균제의 유통 및 저장기간은 시료용 액상 상업용 종균제의 제조 회사 및 주 소비자인 유기 산업 폐수처리 현장에 대한 설문지의 결과(Table 5~7)에 근거하여 설정하였다. Table 5 에서와 같이 종균제는 구입 후 1주 이내에 절반이상이 소비되고, 3주 이내에 대부분 소비되며, 8주 이내에 완전히 소비된다. 또한 Table 6에서와 같이 종균제의 저온 운송조건은 비교적 준수되고 있다고 볼 수 있으나, Table 7 에서와 같이 소비현장에서는 2/3가 냉장시키지 않고 있다. 이러한 경우 액상 종균제는 온도상승에 따른 기질의 변화와, 미생물의 과도한 증식을 일으킬 수 있으므로 지양되어야 하며,¹⁶⁾ 이러한 현실을 감안하여 모든 실험구획별 공시 종균제의 저장조건 및 기간설정을 다음 (1), (2)와 같이 설정하였다.

- (1) 저장기간 :
1주, 3주, 5주 및 7주의 2주 간격 4구획으로 설정
- (2) 저장조건 :
처리장 현장작업실의 겨울철 최저온도(4~6℃)와, 여름철 최고온도(28~30℃)의 평균적 조건인 16 ~18℃의 항온실에서 저장

Table 5. Time pattern of consuming commercial liquid seeds

Time pattern	%
Within a week	52
Within three weeks	40
Within five weeks	4
Within seven weeks	3
Within eight weeks	1

Table 6. Refrigeration and transportation patterns of the commercial liquid seeds

R&T* pattern	%
Below at 5°C	38
Below at 10°C	43
Room temperature	16
Ignore the temperature conditions	3

* refrigeration and transportation

Table 7. Refrigeration pattern of the commercial liquid seeds by final user

R* pattern	%
Below at 5°C	18
Below at 10°C	14
Room temperature	66
Ignore the temperature conditions	2

* refrigeration

3. Total Cell Count(TCC) CFU/ml

3.1 TCC 측정방법¹²⁾

TCC는 각 실험구획별 공시 종균제 1ml에 대한 증속영양 새균수(Heterotrophic Plate Count)를 직접평판배양에 의한 CFU/ml 단위로 측정(Colony counter/SUNTEX M-560 U.S.A 이용)한 후, 환산

하였다. 환산은 다음의 방법으로 산술평균 값을 취해 지수(Exponent number)화 하였다. 지수는 소수 두자리 까지 기수로 취하였다.

$$TCC = \text{평균플로니수} / \text{Plate} \times \text{dilution} \times 1\text{ml}/0.1\text{ml}$$

3.2 TCC 측정시기

각 1주, 3주, 5주 및 7주 등 4구획의 설정기간에 이르는 공시 종균제에 대해 TCC를 측정하였다. 실험의 물리적 편차를 줄이기 위하여 구획간 시간적 간격은 엄격히 준수하고, 신속히 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 대조구의 저장기간에 따른 TCC

Fig. 2에서와 같이 4종의 공시 종균제는 배양 종료 이후 1주일간의 실온저장에서 모두 TCC의 증가를 보였다. 그것은 박¹⁾ 등의 배양결과와 대체로 일치하였다. 공시 종균제 내의 미생물군은 접종 배양 후 실온 저장에서 적어도 1주일간은 순양 과정을 거치며 지속적으로 증식하는 것으로 보인다. 그러나 3주, 5주 및 7주가 되면서 급격한 TCC의 감소를 보이며 7주 후에는 10^6 CFU/ml 단위로 하락하였다. 일반적으로 10^7 CFU/ml 이상으로 TCC가 유지되어야 상업용 종균제로서 상품가치를 갖는 최소한도라고 할 때, 7주 이후에는 상업용 종균제로서의 실효성에 문제점이 될 수 있다고 보인다¹⁷⁾.

Fig. 2에서, 1주일간의 저장시 TCC가 증가하는 것을 알 수 있는데 이것은 Fig. 1의 배양과정에서 4종의 공시 종균제 모두가 군집생장(Group growth)의 단계에서 아직 정상성장기(Stationary growth phase)에 도달하지 않았음을 보여 주고 있는 것으로 생각되며, 따라서 배양종료 후 1주일~3 주일의 저장 기간이 정상성장기에 해당된다고 생각된다.

2. PAC 첨가농도 및 저장기간에 따른 TCC

2.1 1주일 저장 후의 TCC

Fig. 3에서와 같이 PAC 1.5%(v/v)첨가시 TCC가 대체로 Fig. 2의 대조구값과 비슷하였으나, 이

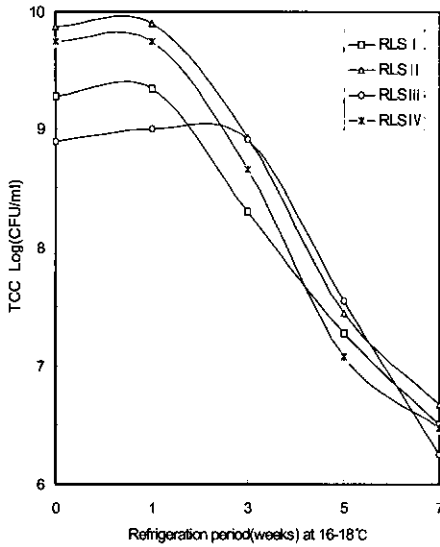


Fig. 2. Variation of TCC for RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV as controls for various refrigeration period at 16~18°C

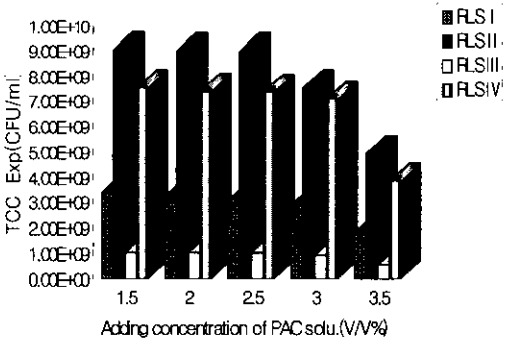


Fig. 3. Variation of TCC for RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAC on various conditions for 1 week

후 PAC의 첨가량이 2.0, 2.5, 3.0%(v/v)로 증가할 수록 TCC는 반대로 점점 감소한다. 특히 3.5% 첨가시는 감소율이 급격하여 1.5%에 비해 거의 절반 수준의 TCC를 보여주므로써, PAC는 1.5% 첨가수준을 제외하고는 TCC의 유지에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다.

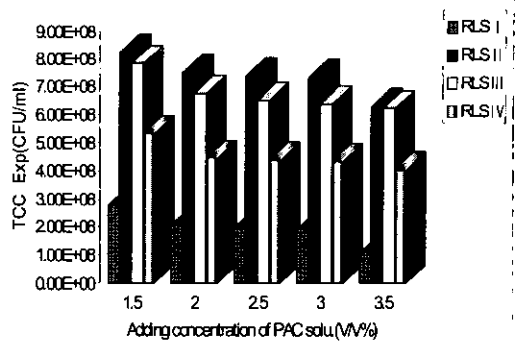


Fig. 4. Variation of TCC for RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAC on various conditions for 3 weeks

2.2 3주일 저장 후의 TCC

Fig. 4에서와 같이 전체 첨가 농도별 실험 구획에서 TCC의 감소는 90%에 도달하여 10⁸ 수준의 TCC를 보여주었다. 농도에 따라 다소의 수준차는 있었으나 90%의 감소결과는 4종의 공시 종균제의 공통적 경향이였다.

그러나 90%의 감소에도 불구하고 앞서의 1주일 저장 후의 TCC(Fig. 3)와 비교할 때 각 농도별 감소율은 거의 그대로 유지되고 있는 것을 고려하면 PAC의 첨가농도가 영향을 주고 있음을 알 수 있다. 모든 공시 종균제에서 3.0%의 첨가 농도와 비교해 볼 때 3.5% 첨가농도에서 급격한 TCC 감소의 경향은 1주일 저장 후의 TCC 감소와 매우 유사하였다.

2.3 5주일 저장 후의 TCC

Fig. 5에서와 같이 TCC는 3주일 저장 후로부터 다시 급격히 하락하는 양상을 보였다. 특히 3.5% 첨가 농도 구획에서는 최초 1주일 저장 후에 비해 거의 2×10²배 만큼의 감소를 보이며 급격히 감소되었다. 이것은 Fig. 2에서 공시 종균제의 5주후 TCC가, 1주일 저장 후에 비해 약 1×10² 배인 것과 비교하면 2배 수준의 감소이다.

모든 농도 구획에서의 농도 증가에 대한 TCC의 감소 경향 역시 유지되었다. 3.5%의 첨가 농도에서 TCC가 10⁶ 수준으로 감소함에 따라 1주, 3주

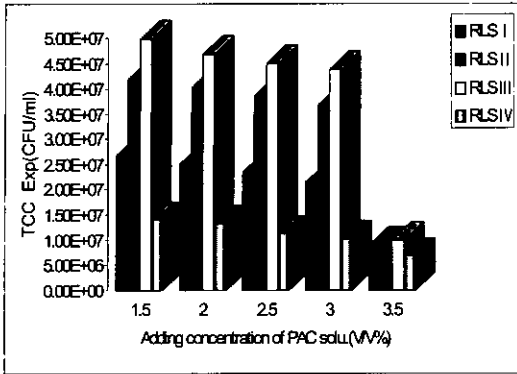


Fig. 5. Variation of TCC for RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAC on various conditions for 5 weeks

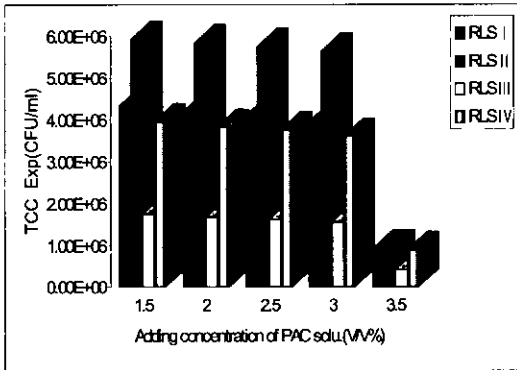


Fig. 6. Variation of TCC for RLS I, RLS II, RLS III and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAC on various conditions for 7 weeks

및 5주에 거쳐, 3.5%의 PAC 첨가는 의미가 없음이 확인되었다. 특이한 것은 타 공시 종균제에 비해 가장 적은 8종의 분리 균주로부터 재구성된 RLS III의 경우 5주일 저장 후 까지의 TCC가 RLS I, RLS II 및 RLS IV에 비해, 생존 균수가 월등히 많은 점인데, Fig. 2 및 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 배양 종료 후 1주일 저장시 TCC 감소율도 가장 적었음을 볼 때 타 공시 종균제에 비해 5주일 저장시 까지 PAC 영향을 가장 적게 받는 종균제 균주 구성 때문이라고 생각된다.

2.4 7주일 저장 후의 TCC

Fig. 6에서처럼 전체적으로 TCC가 10^6 수준이거나 10^5 수준에까지 하락함으로써 종균제로서의 의미가 사실상 소멸된 저장 기간이라 생각된다. 1.5%(v/v)의 첨가 농도를 기준하여, 첨가 농도가 이보다 증가할수록 TCC가 감소하는 경향은 여기에서도 마찬가지였다. RLS IV에서는 TCC 감소 경향이 주춤해 진데 반해, 5주일 저장 기간까지에서 최고의 생존 균수를 보인 RLS III에서 큰 폭의 감소를 보여 최저의 TCC를 나타낸 점이 특기할 만한 일이었다. 감소율이 매우 큰 원인규명을 위한 연구를 수행하지 않았으나, 동일 공시 종균제의 대조구에서 5주 저장에 비해 22배의 감소 경향을 보인 반면, PAC 저장 구획에서는 첨가 농도에 따라 24~28배로 더 큰 감소율을 보인 점은 배지의 기질 고갈의 원인이라기 보다 대사 산물에 의한 영향이거나 미생물 상호간의 생육 저해 현상, 또는 첨가된 기질 첨가물의 영향 등 복합적인 것으로 생각된다.

3. PAS 첨가농도 및 저장기간에 따른 TCC

3.1 1주일 저장 후의 TCC

Fig. 7에서 보는 바와 같이 PAS에서도 PAC와 같은 구획에서는 유사한 결과를 나타내었으며, 다른 점은 동일 농도 첨가 구간에서 전반적으로 PAC에서보다 TCC가 더 적은 점이다. 또한 PAC는 2.5%(v/v)의 첨가농도와 3.0% 첨가 농도 구획에서의 TCC 감소율이 각 6%(RLS I), 16%(RLS II), 11%(RLS III), 및 4%(RLS IV) 이지만, PAS에서는 33%(RLS I), 25%(RLS II), 28%(RLS III) 및 20%(RLS IV)로서 감소율이 훨씬 더 높다.

PAC에서는 1.5%에서 대조구와 비슷한 감소경향을 보인 이후 2.0%, 2.5% 및 3.0%까지 비교적 완만한 감소율을 보이다가 3.5%에서 급격한 감소율을 보인 반면, PAS에서는 2.5% 첨가시부터 큰 감소율을 보이기 시작한다. 이러한 점에서 PAS 역시 PAC와 같이 TCC의 안정적 유지에 오히려 부정적인 원인을 준다.

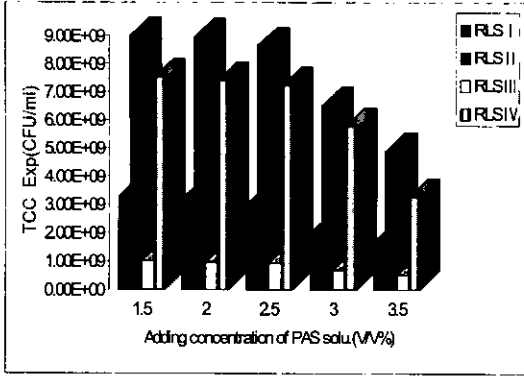


Fig. 7. Variation of TCC for RLS I, RLSII, RLSIII and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAS on various conditions for 1 week

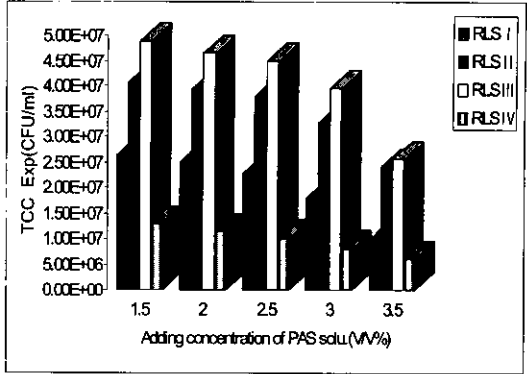


Fig. 9. Variation of TCC for RLS I, RLSII, RLSIII and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAS on various conditions for 5 weeks

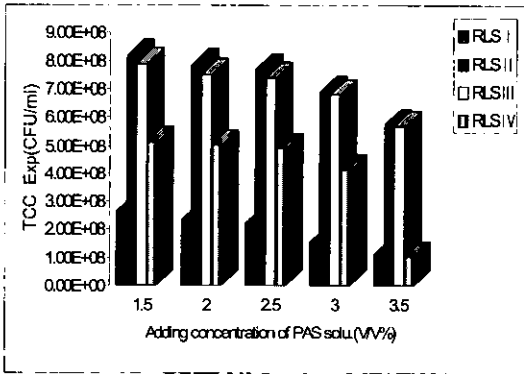


Fig. 8. Variation of TCC for RLS I, RLSII, RLSIII and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAS on various conditions for 3 weeks

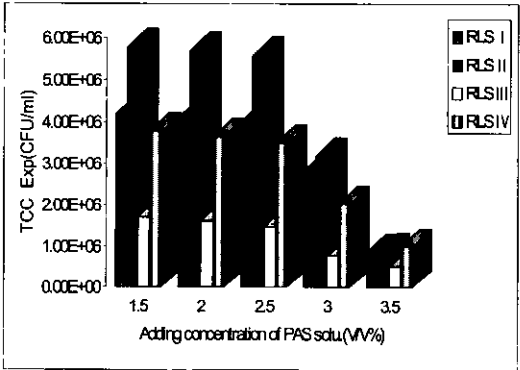


Fig. 10. Variation of TCC for RLS I, RLSII, RLSIII and RLS IV by adding 0.5%(v/v) water dilution PAS on various conditions for 7 weeks

3.2 3주일 저장 후의 TCC

Fig. 8에서 보는 바와 같이 모든 공시 종균제의 경우 1주일 저장 후의 TCC와 비교할 때 역시 1.5%(v/v) 구간에서의 TCC 감소율이 가장 낮으며, 2.0%, 2.5%, 3.0% 및 3.5% 순서로 감소율을 보여준다. 모든 구획에서 TCC는 1주일 저장 후에 비해 1/10 수준으로 감소하였는데, 이러한 감소율도 PAC와 유사하였다. 또한 1주일 저장에서와 마찬가지로 2.5% 이상의 첨가농도에서도 농도의 증가에 비례해 TCC가 급격히 감소하는 경향을 보여준다.

특이한 점은 RLSIV 변화로서, 3.0%와 3.5% 첨가시 TCC 변화로서, 3.5% 첨가시 3.0% 첨가에 비해 75%의 감소율을 보였다. PAC의 동일 농도간의 TCC 감소율이 6%였음과 비교할 때 매우 대조적이라 할 수 있다.

3.3 5주일 저장 후의 TCC

Fig. 9에 나타난 바와 같이 4종의 공시 종균제 전체에 걸쳐 3주일에 비해 다시 1/10 수준으로 떨어져 $10^7 \sim 10^6$ 의 TCC를 보였다. RLS I은 3.5% 첨가 구획에서, RLSIV는 3.0% 및 3.5% 첨가 구획에서

상업용 종균제로서는 부적절한 수준의 TCC를 나타내었다.

또한 4 종류의 공시 종균제의 5주일 저장 후 TCC는, 동일한 농도로 동일한 저장 기간 저장한 PAC 첨가 TCC에 비해 전반적으로 낮게 나타났으나, RLSⅡ 및 RLSⅢ에서는 3.5% 첨가 구간에서 PAC에서보다 RLSⅡ가 2.7배, RLSⅢ가 2.6배 정도 높게 나타나는 특이함을 보였다. 그러나 RLSⅡ에서는 이러한 현상이 7주일 저장 후에까지 이어 지지는 않았다.

전체적으로 첨가 농도간 TCC 감소율은 1주일 및 3주일에서의 감소 경향과 유사하였다.

3.4 7주일 저장 후의 TCC

Fig. 10에 나타난 바와 같이 RLSⅠ~RLSⅣ 공시 종균제의 7주일 저장 후의 TCC는 10^6 ~ 10^5 CFU/ml 수준으로서 상업용으로 활용되기 어려운 수준으로 나타났다. 이것은 PAC의 첨가구획과 동일한 수준으로, PAC 및 PAS를 기질 첨가물로 사용하고 있는 상업용 종균제의 실온조건에서의 저장한계로 보여지며, 특히 3.5% 첨가 농도의 경우는 10^5 CFU/ml 수준으로 매우 낮은 수준을 보여 준다.

7주일 저장 후의 PAS 첨가농도별 TCC 감소 경향도 1, 3, 5주일 경과시와 유사하였다.

4. 고 찰

상업용 액상 종균제에 첨가물로서 응집성 무기 고분자물질을 첨가하는 목적은, 종균제의 장기 저장유통 중에 축적되는 유기물 분해 활성 저열화 균주군의 침강 격리를 유도하여 제한된 기질의 재분배를 유도하고 일정 수준의 TCC가 유지되도록 하여 상품가치를 지속적으로 유지시키려는 방안이라 할 수 있을 것이다¹⁸⁾.

PAC나 PAS의 첨가는 이러한 기대를 충족시키기 위하여 상업적으로 사용되어 왔으나, 그 효과에 대해 보고된 자료가 거의 없다.

본 연구의 결과(Fig. 3~6)로 볼때 PAC는 이러한 기대에 적합지 않은 것으로 나타났다. 모든 실험 구획에서 균주군의 응결에 의한 침강격리는 대조구에 비해 가시적으로 나타났으나, TCC는 대조

구에 비해 약 50% 감소를 나타 내었다. 또한 저장 기간에 따른 TCC를 보면, 1주일 저장시의 가장 낮은 첨가농도인 1.5%(v/v) 경우를 제외하고는 모든 농도 및 실험 구획에서 7주간 지속적으로 감소를 보였으며, 특히 3.5%(v/v) 첨가구획에서는 큰 감소를 보였고, 최장 저장기간인 7주 후에는 대조구에 비해 각 농도별로 10^3 (1.5%, 2.0%, 2.5%, 3.0%)배로부터 10^4 (3.5%)의 급격한 TCC 감소를 나타내어서 상업용 종균제로서 상품가치를 사실상 상실하였다고 판단되었다.

한편, PAS의 경우, Fig. 7~10에서와 같이 1, 3, 5, 7주의 저장기간을 경과하면서 4종의 공시 종균제 모두에서 2주 경과에 따라 TCC는 1/10수준으로 계속 감소하는 경향을 나타내었다. 4종의 공시 종균제에서 1.5% 첨가 구획의 TCC가 가장 높았고, 2.0% → 2.5% → 3.0% → 3.5%로 첨가 농도가 증가함에 따라 TCC는 점진적으로 감소하였다. 특히 2.5%→3.0% 첨가 농도 구획에서 TCC는 5개의 첨가 농도 구획 중 가장 급격한 감소를 보이고 있는데, 이런 현상은 RLSⅠ~RLSⅣ의 모든 공시 종균제에서 공통적으로 나타났다. 이 점으로부터 PAS 3.0%(v/v) 이상의 첨가농도가 공시 종균제의 colony 생성을 상당히 저해하기 시작하는 농도 구획인 것으로 보이며, 3.5%(v/v) 농도 구획에서는 더욱 급격한 TCC 감소를 가져오고, 특히 RLSⅣ의 경우에서 약 75% 수준의 큰 감소율을 보여준다.

전반적으로 보아 PAS가 PAC첨가의 경우보다 공시 종균제의 TCC 감소에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 따라서 상업용 액상 종균제의 상품가치도 기대하기 어려울 것으로 판단된다.

IV. 결 론

본 연구에서는 상업용 액상 종균제의 기능유지에 도움이 될 것으로 판단되어 첨가하는 2종의 대표적 기질 첨가물 [poly aluminum chloride(PAC), poly aluminum sulfate(PAS)]에 대하여, 그 종류, 첨가 농도 및 저장 기간이 총균수(TCC)에 미치는 영향을 실험적으로 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 첨가물의 종류가 미치는 영향은, PAC와 PAS 모두 총균수 유지에 부정적인 영향을 보여 주었다.
- 2) 첨가농도의 영향은, PAC 및 PAS 모두 1.5%(v/v)량 첨가했을 때의 TCC가 가장 높게 나타났으나, 모든 첨가농도 구획에서 대조구(control)보다 낮았다.
- 3) 저장 기간의 영향은, PAC 및 PAS 모두 1주일 저장 후에 총균수가 가장 높게 나타났으나, 3주 이후에는 시간이 경과할수록 총균수의 감소율이 대조구(control)보다 커서 부정적인 결과를 보여 주었다.

본 연구 결과는 중균제 유용 활성 미생물의 물질 대사 과정이나, 구성 미생물 간의 대사 특성에 관한 상업용 액상 중균제 제조 공정에 활용될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. J. A. Park, J. M. Hur, B. S. Son, B. K. Jang, and J. H. Lee: Constraints of Bioaugmentation in Improving Performances of Biological Treatment Process, *Korean J. Sanitation* 14, 103~115, 1999.
2. C. S. McDowell, and T. G. Zitrides: Accelerating the dynamic response of bacterial populations in activated sludge systems, Proceeding of 34th Industrial Waste Conf., Perdue Univ., Butterworth Publication, Boston, Massachusetts, 664~671, 1980.
3. D. K. Nyer, and H. J. Bourgeois: Operational troubleshooting in industrial biological treatment systems, Proceedings of 35th Industrial Waste Conf., Perdue Univ., Butterworth Publication, Boston, Massachusetts, 849~856, 1981.
4. J. V. Chambers: Improving waste removal Performance reliability of a wastewater treatment system through bioaugmentation, Proceedings of 36th Industrial Waste Conf., Perdue Univ., Butterworth Publication, Boston, Massachusetts, 631~638, 1982.
5. 김갑진, 폐수의 생물학적 처리와 미생물 종균제: 환경관리인, 1, 28~32, 2000.
6. C. M. Brown, D. C. Ellwood, and J. R. Hunter: Growth of Bacteria at Surfaces: Influence of Nutrient Limitation, 1, 163~166, 1977.
7. 신정래: 수처리 약품, 녹원출판사, 서울, 37~165, 1985.
8. S. H. Kwon, G. W. Kim, M. S. Jang, and J. K. Ryu: Adsorption of Heavy Metal Ions (Cadmium etc.) using Chitosan Bead, *Korean J. Sanitation*, 11, 3, 21~27, 1996.
9. K. F. Ngian, and W. R. B. Martin: Bed Expansion Characteristics of Liquid Fluidized particles with Attached Microbial Growth, *Biotechnol. Bioeng.*, 22, 1843~1856, 1980.
10. I. N. Jha, L. Iyengram, and A. V. S. Prabhakara rao: Removal of Cadmium using Chitosan, *J. Env. Engin*, 114(4), 962~974, 1988.
11. APHA, AWWA, WEF: Standard Methods for the Examination of Water and wastewater, 18th Edition, APHA, Washington, D. C., 1992.
12. M. Csuros, and C. Csuros: Microbiological Examination of Water and Wastewater, 183~217, Lewis publishers, N. Y., 1999.
13. M. Ronald: Media for Environmental Microbiology, 346, 369, ATLAS, CRC, N.Y., 1995.
14. F. P. Simione, and E. M. Brown: ATCC Preservation Methods: Freezing and Freeze-Drying, 2nd Ed., 14~16, ATCC, Maryland, 1991.
15. 김주영, 정동욱, 서승교 공역: 환경미생물 실험법, 동화기술, 서울, 42~51, 1997.
16. J. T. Novak: Temperature-substrate interactions in biological treatment, *JWPCF*, 46(8), 1984~1995, 1975.
17. A. Hiraishi, K. Masamune, and H. Kitamura: Characterization of the bacterial population

structure in an anaerobic-aerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles, *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 897~901, 1989.

18. T. S. Manickam, and A. F. Gaudy : Comparison

of Activated Sludge Response to Quantitative, Hydraulic, and Combined Shock for the Same Increases in Mass Loading, *JWPCF*, 57(3), 241~252, 1985.