

생물활성탄 공정에서 활성탄 재질에 따른 부착미생물 군집특성

손희종[†] · 박흥기 · 이수애* · 정은영 · 정철우**

부산광역시 상수도사업본부 수질연구소 · *부산광역시 상수도사업본부 명장정수사업소 · **울산산업진흥TP 전략산업기획단

(2005년 11월 10일 접수, 2005년 12월 20일 채택)

The Characteristics of Microbial Community for Biological Activated Carbon in Water Treatment Plant

Hee-Jong Son[†] · Hong-Ki Park · Soo-Ae Lee* · Eun-Young Jung · Chul-Woo Jung**

Water Quality Research Institute, Waterworks Headquarter, Busan · *Myungjang Water Treatment Plant, Waterworks Headquarter, Busan
**Ulsan Regional Innovation Agency, Ulsan Industry Promotion Techno Park

ABSTRACT : The purpose of this research is to survey characteristics of microbial community and the removal efficiency of organic materials for biological activated carbon in water treatment plant. Coal based activated carbon retained more attached bacterial biomass on the surface of the activated carbon than the other activated carbon with operating time and materials. The heterotrophic plate count(HPC), eubacteria(EUB) and 4,6-diamidino-2-phenylindole(DAPI) counts were ranged from 0.95×10^7 to 52.4×10^7 CFU/g, from 3.8×10^8 to 134.2×10^8 cells/g and from 7.0×10^8 to 250.2×10^8 cells/g, respectively. The biomass of EUB and DAPI appeared to be much more 10^2 than HPC, which were increasing in bed volume of 20,000 at the stage of steady-state.

The change of microbial community by analyzing fluorescent *in situ* hybridization(FISH) method with rRNA-targeted oligonucleotide probes, the dominant group was α -proteobacteria(α group) and high G+C content bacteria(HGC) the lowest distributing rate before reaching the bed volume of 20,000. After reaching the bed volume of 20,000, α group and other groups of bacteria became decreased, on the other hand, the proportion of both β -proteobacteria(β group) and γ -proteobacteria(γ group) were increasing. Coconut and wood based activated carbons had similar trend with coal based activated carbon, but the rate of α group on coal based activated carbon had gradually increased.

Bacterial production with the operating period appeared highest in coal based activated carbon at the range of $1.2 \sim 3.4$ mg-C/m³ · h, while the coconut and wood based activated carbon were ranged from 1.1 to 2.6 mg-C/m³ · h and from 0.7 to 3.5 mg-C/m³ · h respectively.

The removal efficiency of assimilable organic carbon(AOC) showed to be highly correlated with bacterial production. The correlation coefficient between removal efficiency of AOC and bacterial production were 0.679 at wood based activated carbon, 0.291 at coconut based activated carbon and 0.762 at coal based activated carbon, respectively.

Key Words : Biological Activated Carbon, Microbial Community, Biomass, Fluorescent *in situ* Hybridization, Bacterial Production

요약 : 본 연구에서는 pilot 규모의 활성탄 공정을 운전하면서 입상활성탄(granular activated carbon: GAC) 단계에서부터 생물활성탄(biological activated carbon: BAC) 단계로 전환되고 난 후 까지 활성탄 재질별로 유기물 제거능과 미생물 군집특성을 함께 조사하였다. 활성탄 재질별 유기물 흡착능은 석탄계 재질의 활성탄이 가장 우수하였고, bed volume 20,000 이후부터는 3가지 활성탄들이 정성상 태에 도달하였다. 부착세균의 생체량과 생산력 또한 석탄계 재질 활성탄에서 가장 높은 것으로 나타났으며, heterotrophic plate count (HPC), eubacteria(EUB), 4,6-diamidino-2-phenylindole(DAPI) 및 생산력은 각각 $0.95 \times 10^7 \sim 52.4 \times 10^7$ CFU/g, $3.8 \times 10^8 \sim 134.2 \times 10^8$ cell/g, $7.0 \times 10^8 \sim 250.2 \times 10^8$ cell/g 및 $1.2 \sim 3.4$ mg · C/m³ · h의 범위로 나타났다. 그리고 부착세균의 생체량과 생산력은 모두 bed volume 20,000 이후부터 증가하는 경향을 보였다. 활성탄 재질별 부착세균 생체량과 세균 생산력에 대한 동화가능한 유기탄소(assimilable organic carbon: AOC) 제거율과의 상관성 평가에서는 석탄계 재질 활성탄이 가장 양호한 상관성을 보였으며, 항목별로는 세균 생산력에 대한 상관성이 상대적으로 높은 것으로 나타났다. Fluorescent *in situ* hybridization(FISH)에 의한 세균군집 구조 조사결과, bed volume 20,000까지는 모든 활성탄에서 α 그룹(α -proteobacteria)과 other bacteria가 우점하였고, bed volume 20,000 이상에서는 석탄계 재질 활성탄에서는 β 그룹(β -proteobacteria)과 γ 그룹(γ -proteobacteria)의 우점비율이 상승하였으나, 야자계와 목탄계에서는 α , β 및 γ 그룹의 우점비율이 상승하는 것으로 조사되었다.

주제어 : 생물활성탄, 미생물 군집, 생체량, Fluorescent *in situ* Hybridization, 세균생산력

1. 서론

정수처리 공정에서 생물활성탄(biological activated carbon: BAC) 공정은 미생물의 유기물 제거능을 극대화시킨 일종의

[†] Corresponding author
E-mail: menuturk@hanmail.net
Tel: 055-323-4718

Fax: 055-323-4719

생물여과 공정으로 이전부터 국내·외에서 널리 사용되고 있는 정수처리 기법이다.¹⁻³⁾ BAC 공정은 일반적으로 오존과 함께 사용되며, 오존에 의해 생성된 생분해 가능한 유기물질(biodegradable organic matter: BOM)이 주로 BAC 공정에서 제거되며,⁴⁾ 미생물 재생장능(microbial regrowth potential)과 소독부산물 생성능 저감에도 효과적인 공정으로 알려져 있고,⁵⁾ 최근에는 멤브레인 공정과 조합하여 새로운 정수처리 공정으로 부각되고 있다.⁶⁾

BAC 공정은 그 수계에 존재하는 미생물들(indigenous microorganisms)이 활성탄에 부착·서식하며 수중의 천연유기물질(natural organic matter: NOM)을 기질로 이용하기 때문에 그 수계에 서식하는 미생물 종들에 매우 의존적이다. 또한, 수온, 유기물 종류 및 pH 등과 같은 유입수의 성상과 활성탄의 재질에 따라서도 부착미생물의 구성종 및 생체량에 많은 차이를 유발하여 BAC 공정의 효율에 많은 영향을 미친다고 알려져 있다.⁷⁻⁹⁾ 따라서, BAC 공정을 최적으로 운영하고자 할 때 부착미생물의 구성종과 생체량 분석은 매우 중요한 요소이며, 여기에 대한 많은 연구결과가 보고되고 있다.^{10,11)}

현재 미생물 분포 및 군집변화에 대한 연구에는 배양적 방법과 비배양적 방법이 사용되고 있다. 배양 가능한 박테리아와 균류를 배양하여 측정하는 heterotrophic plate count(HPC) 법은 수계 내에 배양 불가능한 세균(viable but unculturable bacteria)이 높은 비율로 존재하기 때문에 실제로 활성을 가진 미생물 개체수 보다 낮게 측정되는 등의 문제점이 있어 배양적 방법에 한계를 보이고 있다. 비배양적 방법으로는 직접 계수에 의한 총세균수의 측정방법(total direct count: TDC)인 DAPI 염색법(4,6-diamidino-2-phenylindole)과 형광물질로 표지된 rRNA-target oligonucleotide를 사용한 *in situ* hybridization 방법은 자연 상태의 세균 군집구조를 가장 정확하게 나타낼 수 있는 장점을 가지고 있다.¹¹⁻¹⁶⁾ 특히, Fluorescent *in situ* Hybridization(FISH) 법은 최근에 개발된 분자생물학적 monitoring 기법으로서 미생물 군집구조의 이해에 가장 적합한 방법으로 인식되고 있다.^{14,17-19)} 수처리 분야에서 주로 하·폐수처리 공정 중 생물학적 처리공정의 미생물 군집 분석에 FISH 기법을 이전부터 많이 이용하고 있으며,^{18,20-22)} 상수처리 분야에서는 주로 배·급수관망에서 미생물 재생장(regrowth)에 의해 형성된 생물막 특성분석^{23,24)}과 막 여과 공정 중 막 표면에서 막오염을 유발하는 미생물의 특성분석을 위해 사용하였다.²⁵⁾

본 연구에서는 1일 최대 100톤 처리 용량의 pilot-plant를 이용하여 BAC 공정에서의 활성탄 재질별로 운전기간에 따른 유기물 제거능과 미생물 생체량, 생산력 등 부착 미생물의 분포상태를 조사하였고, 또한, FISH 방법을 이용하여 BAC 부착세균의 군집구조를 분석하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. Pilot-plant 실험장치

본 연구에 사용된 pilot-plant는 최대 100 m³/일 처리용량으로 전오존, 응집-침전-급속여과, 후오존, BAC 공정으로 구성되어 있다. 후오존 처리는 1 mg O₃/mg DOC의 농도로 오존을 투입하였고, 접촉시간은 20분으로 고정하여 운전하였다. 실험기간인 2002년 12월부터 2004년 12월까지의 후오존 처리수의 성상을 Table 1에 나타내었다.

BAC 공정은 직경 30 cm, 총 높이 250 cm인 3개의 아크릴 컬럼에 석탄계(F-400, Calgon), 야자계(삼천리 1급) 및 목탄계(Picabiol, Pica) 활성탄 신탄을 충전하여 공탑체류시간(empty bed contact time: EBCT) 15분, 수리학적 부하율(hydraulic loading rate: HLR) 10 m³/m² · hr로 운전하였으며, 활성탄의 역세척은 평균 주 1회 정도로 하였다. 또한, 실험에 사용된 초기 입상활성탄의 물성치와 세공분포를 Table 2와 Fig. 1에 나타내었다.

Table 1. Characteristics of post-ozonated water

Item	Data
DOC(mg/L)	1.2~1.7
BDOC(mg/L)	0.7~1.1
AOC(μg/L)	230~410
Temp.(°C)	4~25
pH(-)	6.8~7.5

Table 2. The physical characteristics of GACs used in this study

Species	Coal (Calgon F-400)	Coconut (Samchully)	Wood (Pica)
Iodine value(mg/g)	1016	1163	937
Specific surface area(m ² /g)	1100	1230	1350
Total pore volume(cc/g)	0.548	0.495	1.031
Mean pore radius(Å)	23	18	28

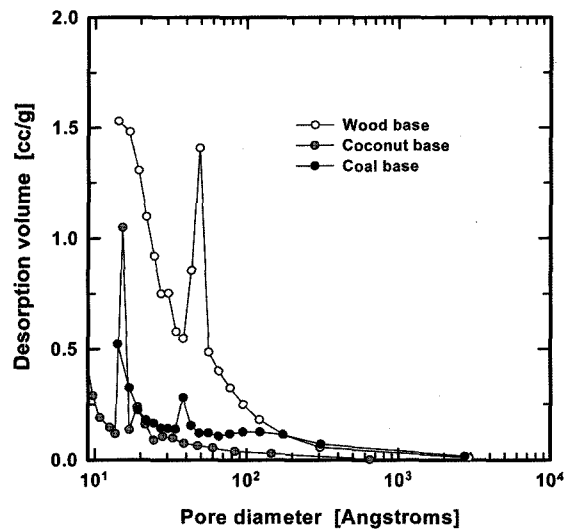


Fig. 1. Distributions of desorption volume with pore size.

2.2. 수질항목 분석

DOC(dissolved organic carbon)는 0.2 μm 멤브레인 필터(Sartorius, Germany)로 여과한 후 그 여액을 TOC analyzer(Sievers 820, Sievers, U.S.A.)로 분석하였으며, 수중의 동화 가능한 유기물을 측정하는 AOC(assimilable organic carbon)는 *Spirillum* strain NOX(ATCC 49643)와 *Pseudomonas fluorescens* strain P-17(ATCC 49642)를 시료수에 접종하여 형성된 colony를 측정하였으며, 두 균주의 수율계수는 각각 4.1×10^6 , 1.2×10^7 CFU/μg of C as acetate로 하였다.²⁶⁾

2.3. 세균 생체량 및 종 동정

BAC에 부착된 종속영양 세균의 생체량(biomass)은 BAC 습중량 1 g을 건조시킨 후 37 kHz, 190 W로 3분 동안 초음파 처리(DHA1000, Branson, U.S.A.)하여 세균을 탈리²⁷⁾시킨 후 R2A agar(Difco) 평판배지²⁸⁾에 시료 1 mL를 단계적으로 희석 도달한 후 25°C 배양기에서 2주간 배양하여 습중량 1 g 당 colony 형성 세균수로 표시하였다.

총 세균수는 nucleotide에 삽입되어 결합하는 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole-2HCl, sigma, U.S.A)로 염색하여 직접 계수하는 DAPI법을 이용하여 측정하였다.

세균의 생산력(bacterial production)은 ³H-thymidine이 DNA에 흡수되는 정도로 구하였다.²⁹⁾ 먼저 BAC 습중량 1 g을 초음파 처리하여 세균을 탈리시킨 시료 2 mL에 200 nM [methyl-³H] thymidine 용액(specific activity: 40~50 Ci/mmol) 1 mL와 200 nM cold thymidine 용액 1 mL를 첨가한 후 교반 배양기에서 in situ 조건으로 4시간 배양하였다. ATP 용액(25 g/L) 100 μL와 1 N NaOH 2 mL를 첨가하여 100°C에서 1시간 동안 가열하여 DNA를 추출한 후 잠시 냉각시키고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 1 mL에 ice-cold 10% trichloroacetic acid 5 mL를 첨가하여 반응을 종료시키고 15분 정도 냉각시킨 후 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과하였다. 이 여지를 vial에 넣고 건조시킨 후 ethyl acetate 1 mL와 10 mL의 scintillation cocktail(Aquasol-2, Packard Co.)을 주입하여 liquid scintillation analyzer(HP, 2500 TR/AB, U.S.A.)로 방사선량을 측정하였다. 얻어진 DPM(disintegrates per minute) 값으로부터 Parsons 등³⁰⁾에 의한 식을 이용하여 incorporation된 thymidine의 양을 계산하였다.³¹⁾

세균의 동정은 형성된 colony의 형태학적 특징을 관찰하여 서로 다른 colony를 R₂A 배지에 희석 도달하여 순수 분리하였다. 순수 분리된 세균은 API 20 NE Kit(bioMerieux,

France) 및 생화학적 실험을 실시하고 Bergey's manual의 분류체계에 따라 속 혹은 종명까지 분류 동정하였다.³²⁾

2.4. 세균 군집구조

2.4.1. 시료 전처리

먼저 BAC 습중량 1 g을 건조시킨 후 초음파 처리하여 세균을 탈리시킨 다음 시료를 0.2 μm polycarbonate 멤브레인 필터(Millipore)로 여과하였다. 여과 후 1×phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)로 세척하였고, 다시 ethyl alcohol을 이용하여 세척하고 공기 중에서 필터를 건조시켰다.

2.4.2. Gene probes

본 연구에 사용된 probe들은 Eubacteria와 결합하는 EUB338, α group과 결합하는 ALF 1b, β group과 결합하는 BET 42a, γ group과 결합하는 GAM 42a, Cytophaga-Flavobacterium(CF) group과 결합하는 CF 319a, 그리고 Gram(+) High G+C Content와 결합하는 HGC probe이며, 이들 probe의 sequence 및 specificity를 Table 3에 나타내었다.

2.4.3. Fluorescent in situ Hybridization(FISH)

Gelatin coated slide glass에 필터를 올려놓은 후에 probe 1 μL(최종농도 5 μg/μL)와 hybridization buffer(0.9 mM NaCl, 0.01% SDS, 20 mM Tris/HCl, X% Formamide) 8 μL를 첨가하여 46°C에서 90분 정도 반응시킨 후 water bath(SB-9, Eylea, Japan)로 미리 가열시킨 washing buffer로 48°C에서 15분 동안 세정하여 공기 중에서 건조시켰다. 형광현미경(Axioskop 2 plus, Carl Zeiss, Germany)과 scanning confocal laser microscopy(LSM 510, Carl Zeiss, Germany)를 사용하여 800배 및 400배의 배율에서 field내에 나타난 세균 등을 10번 이상 계수하여 그 평균값을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 활성탄 재질별 운전기간에 따른 용존유기물질 제거능

활성탄 재질별 운전기간에 따른 DOC 제거율 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 운전 초기단계에서의 DOC 흡착능은 Fig. 2(c)에 나타낸 석탄계 재질의 활성탄이 가장 우수하였고, 다음으로 야자계(Fig. 2(b)), 목탄계(Fig. 2(a)) 순으로 나타났다. 또한, bed volume 20,000 부근부터 3 가지 재질의 활성탄들이 정상상태(steady state)에 도달하는 것으로 조사되었다.

Table 3. Sequences, target sites specificities of rRNA-targeted oligonucleotide probes used for Fluorescent in situ hybridization

Probe	Specificity	Probe sequence(5'→3')	Formamide	Reference
EUB338	Eubacteria	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	20(0-50)	33)
ALF 1b	α subclass of Proteobacteria	CGTTCGYCTGAGCCAG	20	23)
BET 42a	β subclass of Proteobacteria	GCCTTCCCACTTCGTTT	35	23)
GAM 42a	γ subclass of Proteobacteria	GCCTTCCCACATCGTTT	35	23)
CF 319a	Cytophaga-Flavobacterium	TGGTCCGTGTCTCAGTAC	15	14)
HGC	Gram(+) with high G+C content	TATAGTTACCACCGCCGT	25	20)

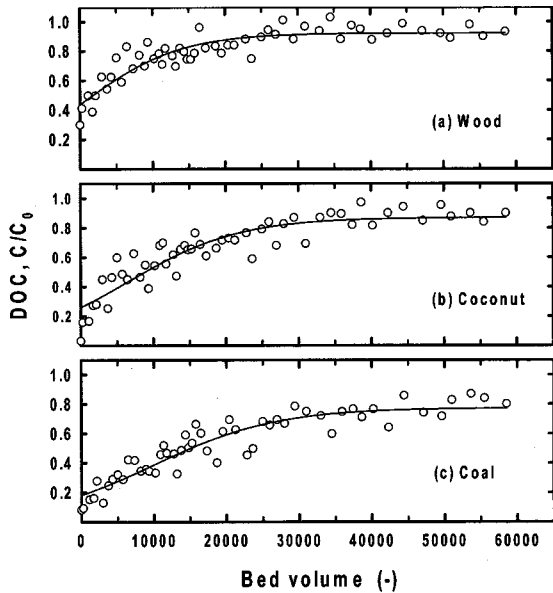


Fig. 2. DOC breakthrough curves for various GACs.

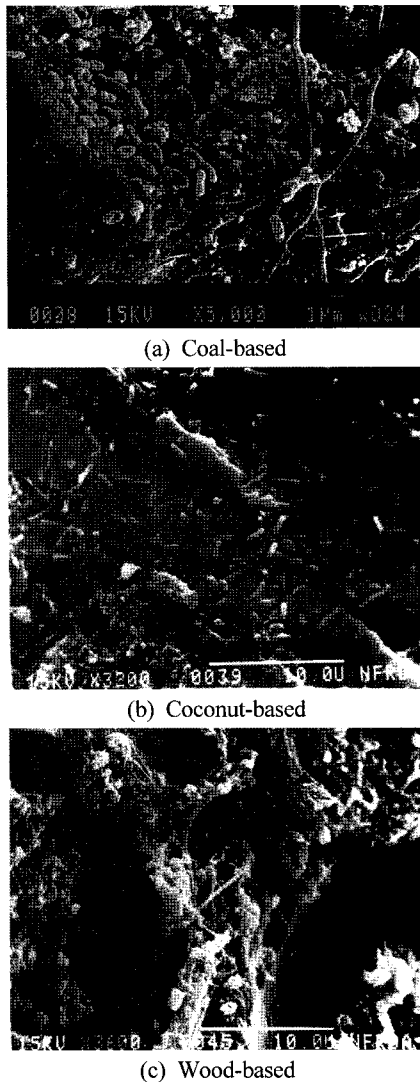


Fig. 3. SEM photograph of attached bacteria on BAC.

유기물 흡착능이 우수한 활성탄은 유기물 흡착능이 낮은 활성탄 보다 상대적으로 부착미생물에 대한 유기탄소원의 공급이 뛰어나다는 것을 의미하며, 유기탄소원의 공급이 우수한 활성탄에는 부착되는 미생물의 생체량 및 종류도 다양할 것으로 예상되어 각 재질별 활성탄들에 대해 정상상태에 도달 후인 bed volume 30,000 부근에서 각각의 활성탄 칼럼에서 표층을 채취하여 SEM(scanning electron microscope) 촬영한 것을 Fig. 3에 나타내었다.

SEM 사진결과로는 활성탄 표면에 부착된 세균들에 대하여 형태학적인 특성만을 나타내기 때문에 정확한 구분은 힘들지만 야자계 재질의 활성탄 표면을 촬영한 Fig. 3(b)를 보면 Fig. 3(a)의 석탄계 재질의 활성탄과 (c)의 목탄계 재질 활성탄에 비하여 단조로운 세균 군집과 적은 개체수를 가지는 것을 관찰할 수 있었다. 이전의 연구결과^{34,35)}에서 활성탄 표면의 많은 세균 중에서 미생물들이 부착·서식하기에 좋은 환경은 500 Å 이상의 거대세공(macropore)으로 보고하고 있다. 석탄계와 목탄계 활성탄의 경우는 활성탄의 세공분포를 나타낸 Fig. 1에서 볼 수 있듯이 500 Å 이상의 거대세공이 야자계 활성탄 보다 많이 발달해 있는 것을 볼 수 있다.

3.2. 활성탄 재질별 운전기간에 따른 부착세균의 생체량과 군집구조 변화

DAPI는 세균의 세포막을 통과하여 세포내 DNA 이중나선 중 AT 염기서열이 많은 minor group과 결합하는 원리를 이용하는 것으로서 황록색의 형광을 발하게 된다. 또한, FISH는 특정 염기서열에만 특이하게 결합하는 gene probe를 이용하여 세포형태를 그대로 유지하면서 원하는 세포를 관찰할 수 있고, 정량적 분석이 가능한 특징을 가지고 있는 방법이다.

Fig. 4는 이러한 방법을 이용하여 활성탄 재질별로 부착미생물의 분포를 조사한 결과로 석탄계 재질 활성탄이 다른 재질의 활성탄에 비해 생체량이 많음을 현미경 상에서 확인할 수 있었다.

활성탄 재질별 운전기간에 따른 부착세균의 생체량 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 부착세균의 생체량은 기존 평판배양법(HPC), FISH를 이용한 eubacteria(EUB) 및 DAPI를 이용한 TDC를 평가하였다. 그래프에서 EUB는 막대그래프의 검은 부분으로 표시하였으며, DAPI는 막대그래프의 검은 부분과 흰 부분이 합쳐진 막대그래프 전체로 표시하였다.

Fig. 5(a)에 나타난 석탄계 재질 활성탄의 경우, HPC는 $0.95 \times 10^7 \sim 52.4 \times 10^7$ CFU/g 범위를 나타내었으며, EUB 및 DAPI는 각각 $3.8 \times 10^8 \sim 134.2 \times 10^8$ cells/g 및 $7.0 \times 10^8 \sim 250.2 \times 10^8$ cells/g의 범위를 나타내어 HPC보다 EUB 및 DAPI에 의한 부착세균의 생체량이 10^2 정도 높은 결과를 나타내었다. 또한, 운전기간에 따른 증가추세는 HPC나 EUB 및 DAPI 모두 bed volume 20,000부터 증가하는 경향을 보였다.

야자계와 목탄계 재질의 활성탄에서 HPC, EUB 및 DAPI의 생체량 변화를 Fig. 5(b)와 (c)에 나타내었다. HPC의 경우 야자계 재질 활성탄에서는 $0.21 \times 10^7 \sim 16.0 \times 10^7$ CFU/g, 목탄계 재질의 활성탄에서는 $1.0 \times 10^7 \sim 30.5 \times 10^7$ CFU/g으로 나

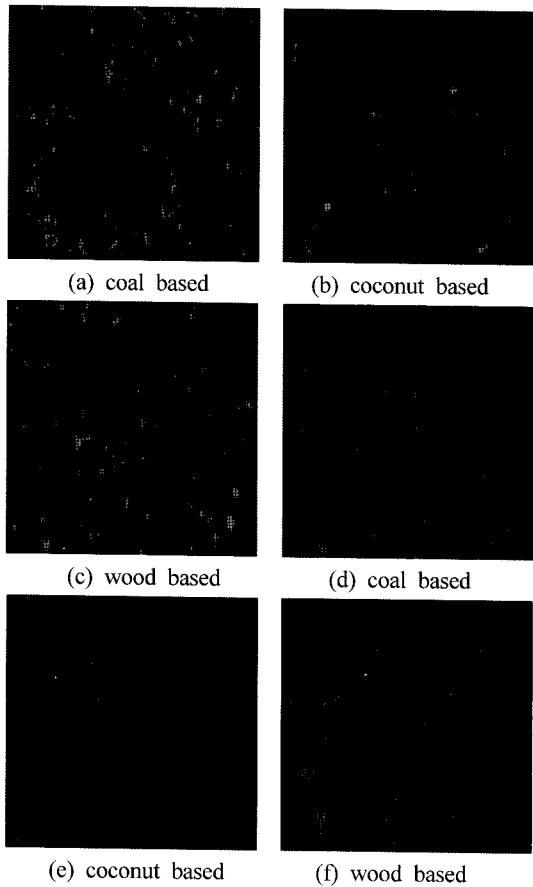


Fig. 4. Photograph of DAPI and EUB for attached bacteria on BAC (a~c: DAPI, d~f: EUB).

타났으며, EUB 및 DAPI의 경우 야자계는 각각 $1.8 \times 10^8 \sim 56.1 \times 10^8$ cells/g, $3.1 \times 10^8 \sim 100.0 \times 10^8$ cells/g으로 나타났으며, 목탄계는 각각 $5.6 \times 10^8 \sim 110.5 \times 10^8$ cells/g, $9.7 \times 10^8 \sim 160.1 \times 10^8$ cells/g으로 나타났다.

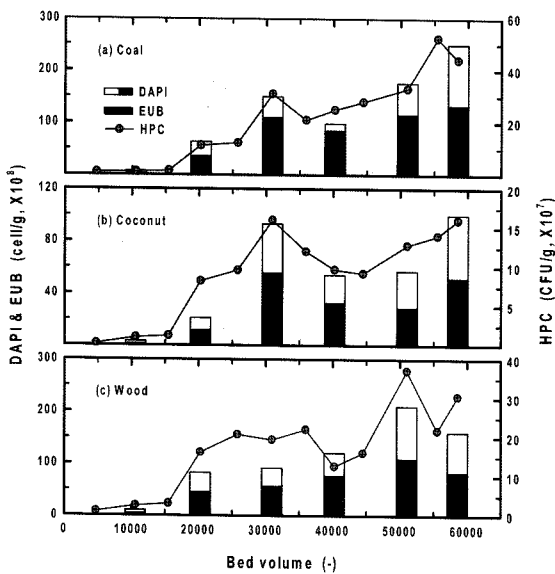


Fig. 5. Variations of bacterial biomass according to bed volume.

따라서, 활성탄 종류별 부착세균 생체량은 HPC, EUB 및 DAPI 모두 석탄계 재질 활성탄에서 가장 높은 것으로 나타났다, 다음으로 목탄계, 야자계 활성탄 순으로 조사되었다. 또한, HPC, EUB 및 DAPI 모두 bed volume 20,000 이후부터 증진되어 운전기간이 경과할수록 증가하는 추세를 나타내었다. 이것은 Fig. 2에서와 같이 bed volume 20,000 이후부터 BAC가 정상상태에 도달하여 미생물의 활성이 증진되기 시작하는 시점과 부착세균의 생체량이 거의 일치한다고 볼 수 있다.

세균(bacteria)계 내에서는 여러 문(Phylum)들이 존재하지만 Gram(+) bacteria와 Cyanobacteria 그리고 Proteobacteria가 많은 부분을 차지하고 있다. 그 중 Proteobacteria는 Gram(-) bacteria 중 가장 규모가 크며, 생리학적으로 다양한 eubacteria 그룹으로 종속영양세균의 대부분을 차지하고 있다.³⁶⁾ Eubacteria 그룹 중 α 그룹은 다양한 불활대사능과 다양한 형태를 가진 세균군을 포함하며 저농도의 유기물 이용능력이 다른 세균군에 비하여 높은 것으로,³⁷⁾ β 그룹은 빈 영양 상태의 호수, 저온의 수계에서 우점한다고 보고되었다.³⁸⁾ γ 그룹은 분해가 용이한 유기물질을 이용하여 빠른 성장능을 가진 그룹이고, CF 그룹은 심수층에 존재하는 다양한 고분자 물질의 분해에 관여하는 것으로 알려져 있다.³⁹⁾

이번 BAC 공정에서의 활성탄 재질별 세균군집 구조변화를 FISH로 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. Fig. 6(a)에 나타난 석탄계 재질 활성탄의 경우 정상상태 도달 전인 bed volume 20,000까지의 FISH 각 그룹들의 평균 우점비율을 조사한 결과 α 그룹이 33.5%, other bacteria가 26.3%로 나타났으며, β 그룹이 8.7%, γ 그룹이 14.8%, CF 그룹이 10.5% 및 HGC 그룹이 5.9%로 분포하고 있는 것으로 나타났으며, α 그룹이 가장 많은 비율로 분포하고 있었고, HGC 그룹이 가장 낮게 분포하였다. Fig. 6(b)와 (c)에서와 같이 정상상태 도달 전인 bed volume 20,000까지의 결과는 야자계와 목탄계 재질의 활성탄에서도 석탄계와 유사한 경향을 보였다.

또한, BAC가 정상상태 도달 후인 bed volume 20,000 이상에서는 석탄계 활성탄의 경우 α 그룹이 차지하는 비율이 34.3%(bed volume 20,266)에서 24.9%(bed volume 58560)로 감소하였고, other bacteria는 25.8%(bed volume 20,266)에서 3.4%(bed volume 58560)로 감소하여 우점비율이 큰 폭으로 감소하였다. 그러나 β 그룹과 γ 그룹의 경우 bed volume 20,000 부근에서는 4.2%와 17.5%의 우점비율을 나타내었으나 bed volume 58,000 부근에서는 31.6%와 32.0%의 우점비율을 나타내어 우점비율이 크게 상승하였으며, CF와 HGC 그룹들은 10% 미만의 낮은 우점비율을 나타내었다. 또한, 야자계와 목탄계 활성탄의 결과에서는 other bacteria는 운전기간이 경과할수록 우점비율이 크게 감소하여 bed volume 58,000 부근에서는 각각 9.2%와 6.5%의 분포를 나타내었으나 α 그룹의 경우는 석탄계 재질의 활성탄과는 반대로 우점비율이 점점 증가하여 bed volume 58,000 부근에서는 각각 36.39%, 41.0%의 우점비율을 나타내었다. 또한, β 그룹과 γ 그룹의 경우는 석탄계 재질의 활성탄과 같이 우

점비율이 운전기간이 경과할수록 점점 증가하는 것으로 나타났다. 이들의 우점비율은 석탄계 재질 활성탄의 우점비율 보다는 낮게 나타났다. 또한, CF와 HGC 그룹은 석탄계 활성탄과 마찬가지로 낮은 우점비를 나타내었으며, 그 비율도 운전기간의 경과에 따라 점점 감소하는 것으로 나타났다. 활성탄 재질별로 세균군집 분포에 차이가 나는 이유는 각 활성탄별 유기물 흡착능과 세균들이 서식할 수 있는 세공의 크기 및 용적의 차이에서 기인되는 것으로 판단되며, 타 그룹 보다는 α 그룹이 우점하는 것으로 나타나 유기물 이용능력, 즉 유기물 제거는 주로 α 그룹에 의해 조절되어짐을 알 수 있었다.

또한, 활성탄 재질별 운전기간에 따른 세균 생산력(bacterial production)의 변화 결과를 살펴보면 석탄계 재질의 활성탄의 경우는 1.2~3.4 mg-C/m³·h의 범위로 나타났으며, bed volume 30,000 부근에서 가장 높게 나타났다. 야자계와 목탄계 활성탄의 경우 1.1~2.6 mg-C/m³·h, 목탄계 0.7~3.5 mg-C/m³·h로 나타났다. 또한, bed volume 20,000 이후의 평균 세균 생산력을 조사한 결과 석탄계 재질의 활성탄이 2.90 mg-C/m³·h, 목탄계 재질의 활성탄이 2.58 mg-C/m³·h 및 야자계 재질의 활성탄은 2.06 mg-C/m³·h으로 나타나 정상상태 도달 이후의 세균 생산력의 경우도 석탄계 재질의 활성탄이 가장 높은 것으로 나타났다.

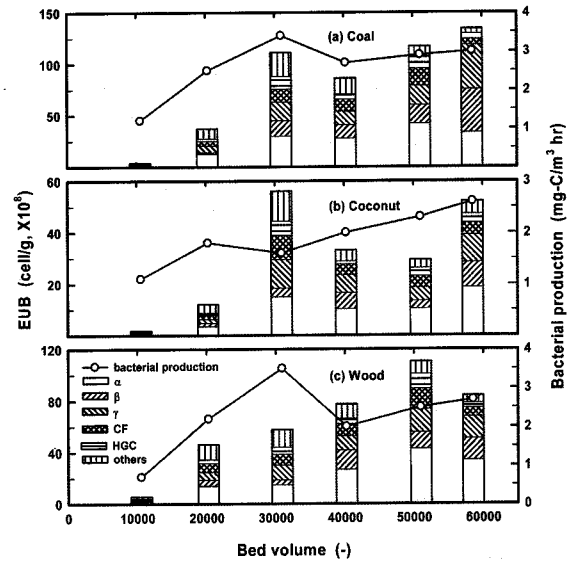


Fig. 6. Variations of bacterial communities and bacterial production according to bed volume.

Table 4에는 실험기간 동안의 EUB에 대한 각 그룹들의 비율 및 DAPI에 대한 EUB의 비율을 나타내었다. 운전기간에 따른 각각의 구성비율은 활성탄 재질별로 큰 차이를 보이지는 않았고, 운전기간에 따라 EUB에 대한 α 그룹의 비

Table 3. Distribution of bacteria isolated in different BAC types

Coal based							
Bed volume	α/EUB	β/EUB	γ/EUB	CF/EUB	HGC/EUB	others/EUB	EUB/DAPI
10,578	32.7%	13.2%	12.1%	9.4%	5.9%	26.7%	54.4%
20,266	34.3%	4.2%	17.5%	12.2%	5.9%	25.8%	58.9%
30,933	27.0%	13.8%	16.4%	11.4%	10.9%	20.5%	74.0%
40,232	32.5%	15.0%	15.5%	13.5%	5.9%	17.7%	87.9%
51,009	35.9%	15.8%	16.0%	14.1%	10.3%	7.9%	66.5%
58,560	24.9%	31.6%	32.0%	4.1%	3.9%	3.4%	53.7%
Coconut based							
Bed volume	α/EUB	β/EUB	γ/EUB	CF/EUB	HGC/EUB	others/EUB	EUB/DAPI
10,578	31.0%	11.1%	8.7%	12.2%	14.6%	22.4%	57.5%
20,266	29.7%	10.6%	12.0%	13.7%	7.1%	26.8%	57.5%
30,933	26.9%	6.1%	19.9%	16.8%	9.8%	20.6%	60.3%
40,232	31.2%	19.0%	20.7%	13.0%	3.4%	12.7%	61.5%
51,009	35.9%	10.5%	17.6%	14.9%	10.7%	10.5%	51.6%
58,560	36.3%	18.6%	20.5%	8.8%	6.5%	9.2%	52.1%
Wood based							
Bed volume	α/EUB	β/EUB	γ/EUB	CF/EUB	HGC/EUB	others/EUB	EUB/DAPI
10,578	33.1%	11.3%	7.0%	12.9%	12.4%	23.3%	57.4%
20,266	30.5%	10.8%	12.6%	14.9%	6.2%	25.0%	56.4%
30,933	26.1%	6.6%	20.2%	14.4%	9.3%	23.4%	63.3%
40,232	34.9%	19.4%	14.3%	12.1%	5.3%	14.1%	64.5%
51,009	39.0%	11.6%	16.2%	14.3%	10.5%	8.6%	52.6%
58,560	41.0%	20.0%	20.2%	7.8%	4.6%	6.5%	52.5%

율(α /EUB)은 거의 비슷하게 나타나고 있으며, EUB에 대한 β 와 γ 그룹의 비율(β /EUB, γ /EUB)은 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 EUB에 대한 나머지 그룹들의 비율(CF/EUB, HGC/EUB, others/EUB)은 운전기간이 경과함에 따라 점점 감소하는 것으로 조사되었다. 또한, EUB 그룹들 중 평균 우점율이 가장 높은 그룹은 α 그룹이며, β 와 γ 그룹은 비슷한 우점율을 보이며 α 그룹 다음으로 높은 우점율을 나타내는 것으로 조사되었다.

DAPI에 대한 EUB의 비율(EUB/DAPI)의 경우도 각각의 활성탄에서 큰 차이를 보이지는 않았으나 석탄계 활성탄에서 EUB/DAPI의 비율이 54~88%로 가장 높은 것으로 조사되었으며, 다음으로 목탄계(53~65%), 야자계 활성탄(52~62%) 순으로 조사되었다. 조사기간 동안 EUB/DAPI의 비율은 62.5~80.5%로 나타났으며, 이는 Glockner 등³⁹⁾이 수생생태계를 대상으로 조사한 52.5~77.9%에 비해 약간 높은 경향을 보였다.

활성탄 재질별로 bed volume 50,000 부근에서 활성탄 표층을 채취하여 부착된 세균들을 동정한 결과를 Table 5에 나타내었다. 각각의 활성탄에서 Gram 음성 세균인 *Pseudomonas* 속이 53~65%로 가장 많이 분포하는 것으로 나타났고, 그 다음으로 *Flavobacterium* 속, *Alcaligenes* 속, *Acinetobacter* 속, *Aeromonas* 속 등의 순으로 조사되었으며, Gram 양성 세균인 *Bacillus* 속, *Micrococcus* 속이 일부 검출되었다. 그리고 약 7~10%의 세균은 동정되지 않았다. 이는 Stewart 등⁴⁰⁾이 조사한 연구결과 즉 생물활성탄에 부착된 세균으로는 주

로 *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Chromobacterium* 속 등이 있는 것으로 알려진 결과와 비슷한 경향을 보였다. *Pseudomonas* 속의 경우 야자계와 석탄계 BAC는 *Pseudomonas vesicularis*, 목탄계 BAC는 *Pseudomonas cepacia*가 우점종으로 나타났다. 이렇게 BAC 종류별로 부착세균의 우점종이 다른 이유는 활성탄의 세공 크기, 표면 조직, 유속 등 차이로 인해 세균이 활성탄에 부착할 수 있는 환경 조건이 다르기 때문인 것으로 판단된다.

3.3. BAC 활성탄 재질별 AOC 제거율과 부착세균 생체량과의 관계

본 실험에서 활성탄 재질별로 bed volume 변화에 따른 AOC 제거효율과 부착세균 생체량(HPC, TDC) 및 세균 생산력의 상관관계를 조사한 결과를 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7(a)의 bed volume 변화에 따른 HPC와 AOC 제거율과의 상관성 평가에서 3가지 재질의 활성탄의 상관관계수(r^2)는 목탄계, 야자계 및 석탄계 활성탄에서 각각 0.590, 0.127 및 0.666으로 석탄계 활성탄에서 가장 상관성이 큰 것으로 나타났으며, Fig. 7(b)의 TDC(DAPI)와 AOC 제거율과의 상관성 평가에서도 상관관계수(r^2)가 목탄계, 야자계 및 석탄계 활성탄 순으로 각각 0.520, 0.080 및 0.667로 나타나 석탄계 활성탄이 가장 높은 상관성을 가지는 것으로 나타났다. 또한, Fig. 7(c)에 나타난 세균 생산력의 경우도 상관관계수(r^2)가 목탄계 0.679, 야자계 0.291 및 석탄계 0.762로 나타나 석탄계 활성탄이 가장 높은 상관성을 가지는 것으로 나타났으며, 다음으로 목탄계, 야자계 활성탄 순으로 나타났다.

활성탄 재질별 부착세균 생체량 및 세균 생산력에 대한 AOC 제거율과의 상관성 평가결과, 석탄계 활성탄이 각 항목들과 가장 양호한 상관성을 가지는 것으로 평가되었으며, 항목별로는 세균 생산력이 각 재질별 활성탄들과 가장 상관성이 높은 것으로 나타났다.

Moll 등¹⁰⁾은 부착미생물의 생체량(biomass)으로 미생물의 신진대사능을 평가하는 것은 부적절하며, 생체량과 유기물 산화능과는 밀접한 상관성은 없는 것으로 보고하고 있다. 또한, Melin 등⁹⁾은 수온의 변화에 따른 세균의 생체량, 활성도(activity) 및 유기물 산화능과의 상관성을 조사한 결과 수온의 변화에 따라 생체량은 큰 변화는 나타나진 않았으나 세균의 활성도는 많이 저하되어 유기물 산화능도 저하한다고 보고하고 있다.

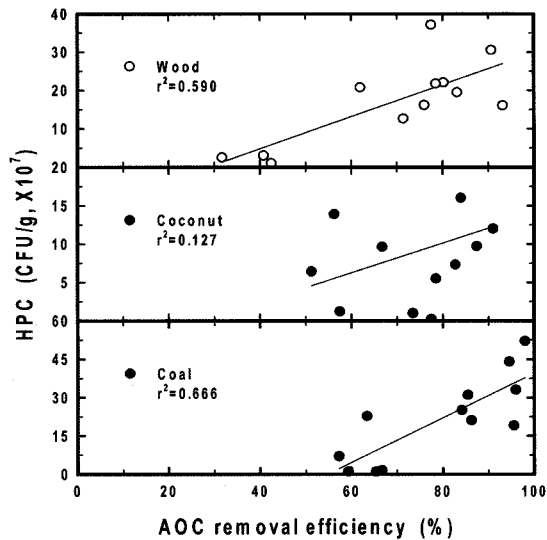
4. 결론

본 실험은 파일럿 규모의 활성탄 공정을 운전하면서 GAC 공정에서부터 BAC 공정으로 전환 후 활성탄 재질별로 유기물 제거능과 미생물 군집분포 특성을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

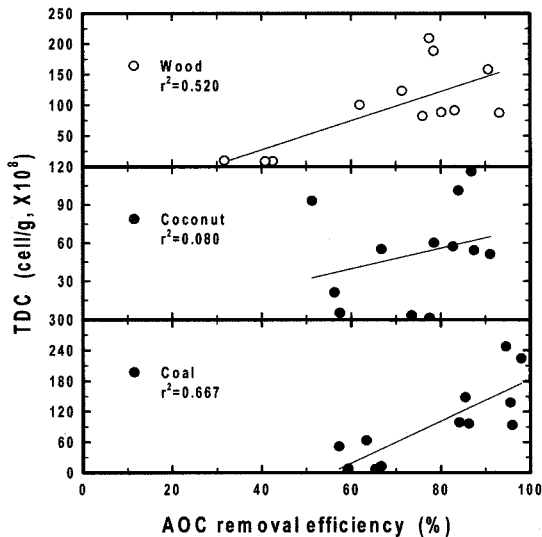
- 1) 활성탄 재질별 운전기간에 따른 DOC 흡착능은 석탄

Table 5. Distribution of bacteria isolated in different BAC types

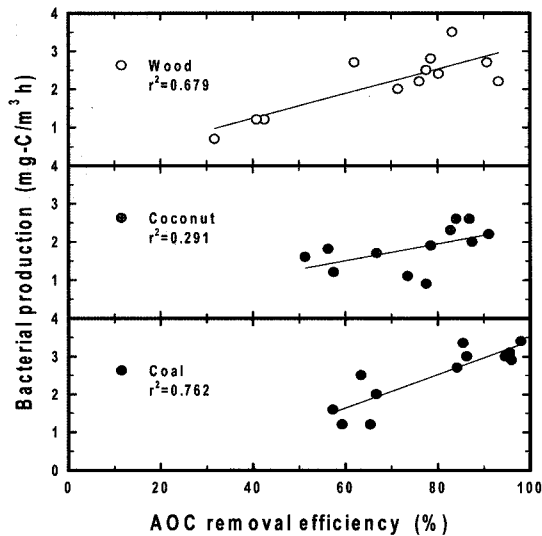
Bacterial identification	% population in BAC		
	Coal-based	Coconut-based	Wood-based
Gram negative			
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		5	4
<i>Acinetobacter alcaligene</i>	4		3
<i>Aeromonas hydrophila</i>		3	2
<i>Alcaligenes faecalis</i>	2	4	
<i>Alcaligenes odorans</i>		3	
<i>Flavobacterium breve</i>	3	6	7
<i>Flavobacterium indolgenes</i>	4	4	6
<i>Flavobacterium meningosepicum</i>		3	2
<i>Pasteurella haemolytica</i>	5	3	
<i>Pseudomonas vesiculari</i>	33	31	22
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	12	3	5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	14	12	11
<i>Pseudomonas cepacia</i>	9	7	27
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	6	
Gram positive			
<i>Bacillus spp.</i>		2	2
<i>Micrococcus spp</i>	2	1	
Unidentified	10	7	9



(a) HPC biomass vs. AOC removal efficiency



(b) TDC biomass vs. AOC removal efficiency



(c) Bacterial production vs. AOC removal efficiency

Fig. 7. Correlation between AOC removal efficiency and bacterial biomass in different BAC types.

계 재질의 활성탄이 가장 우수하였고, 다음으로 아자계, 목탄계 순으로 나타났으며, bed volume 20,000 이후부터 3가지 활성탄들이 정상상태(steady state)에 도달하였다.

2) 활성탄 재질별 운전기간에 따른 부착세균의 생체량은 석탄계 재질 활성탄에서 HPC, EUB 및 DAPI가 각각 $0.95 \times 10^7 \sim 52.4 \times 10^7$ CFU/g, $3.8 \times 10^8 \sim 134.2 \times 10^8$ cells/g 및 $7.0 \times 10^8 \sim 250.2 \times 10^8$ cells/g으로 조사되어 가장 많은 생체량을 보였고, 다음으로 목탄계, 아자계 활성탄으로 나타났다.

3) 활성탄 재질별 운전기간에 따른 세균 생산력은 석탄계 활성탄이 $1.2 \sim 3.4$ mg-C/m³·h의 범위로 가장 높은 것으로 나타났고, 다음으로 아자계와 목탄계 활성탄의 경우 $1.1 \sim 2.6$ mg-C/m³·h, 목탄계 $0.7 \sim 3.5$ mg-C/m³·h로 나타났다. 또한, bed volume 20,000 이후의 평균 세균 생산력을 조사한 결과 석탄계 재질의 활성탄이 2.90 mg-C/m³·h, 목탄계 재질의 활성탄이 2.58 mg-C/m³·h 및 아자계 재질의 활성탄은 2.06 mg-C/m³·h로 나타나 정상상태 도달 이후의 세균 생산력의 경우도 석탄계 재질의 활성탄이 가장 높은 것으로 나타났다.

4) 활성탄 재질별 부착세균 생체량 및 세균 생산력에 대한 AOC 제거율과의 상관성 평가결과, 석탄계 활성탄이 각 항목들과 가장 양호한 상관성을 보이는 것으로 조사되었고, 항목별로는 세균 생산력이 각 재질별 활성탄들과 상관성이 상대적으로 높은 것으로 나타났다.

5) 활성탄 재질별 세균군집 구조변화를 FISH로 조사한 결과, bed volume 20,000까지의 각 그룹들의 평균 우점비율은 α 그룹과 other bacteria가 모든 활성탄에서 가장 높은 것으로 나타났고, HGC 그룹이 가장 낮은 비율로 분포하였다. 또한, BAC가 정상상태 도달 후인 bed volume 20,000 이상에서는 석탄계 활성탄의 경우 α 그룹과 other bacteria가 차지하는 비율은 점점 감소하였으나 β 그룹과 γ 그룹은 크게 상승하였다. 아자계와 목탄계 활성탄에서는 α , β 및 γ 그룹은 우점비율이 운전기간이 경과할수록 점점 증가하는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Servais, P., Billen, G., Bouillot, P., and Benezet, M., "A pilot study of biological GAC filtration in drinking water treatment," *J. Wat. Suppl.: Res. & Technol.-Aqua*, **41**(3), 163~168(1992).
2. 노재순, 손희종, 박흥기, 황영도, 류동춘, 강임석, 주기재, "고도정수공정에서의 BOM 제거특성 평가," *대한환경공학회지*, **25**(7), 909~919(2003).
3. 손희종, 노재순, 김상구, 배석문, 강임석, "활성탄 공정에서의 염소 소독부산물 제거특성," *대한환경공학회지*, **27**(7), 762~770(2005).
4. Carlson, K. H. and Amy, G. L., "Ozone and biofiltration optimization for multiple objective," *J. AWWA*, **93**(1), 88~98(2001).

5. Langlais, B., Recjhow, D. A., and Brink, D. R., *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering*, Lewis Publisher, Inc., Chelsea, Mich.(1991).
6. Park, J., Takizawa, S., Katayama, H., and Ohgaki, S., "Biofilter pretreatment for the control of microfiltration membrane fouling," *Water Sci. Tech., Water Supply*, **2**(2), 193~199(2002).
7. Fonseca, A. C., Summers, R. S., and Hernandez, M. T., "Comparative measurements of microbial activity in drinking water biofilters," *Water Res.*, **35**(16), 3817~3824(2001).
8. Kihn, A., Andersson, A., Laurent, P., Servais, P., and Prévost, M., "Impact of filtration material on nitrification in biological filters used in drinking water production," *J. Water Suppl.: Res. & Technol.-Aqua*, **51**(1), 35~45(2002).
9. Melin, E., Eikebrokk, B., Brugger, M., and Ødegaard, H., "Treatment of humic surface water at cold temperatures by ozonation and biofiltration," *Water Sci. Tech.: Water Supply*, **2**(5~6), 451~457(2002).
10. Moll, D. M., Summers, R. S., Fonseca, A. C., and Matheis, W., "Impact of temperature on drinking water biofilter performance and microbial community structure," *Environ. Sci. Technol.*, **33**(14), 2377~2382(1999).
11. Långmark, J., Storey, M. V., Ashbolt, N. J., and Stenström, T. A., "Artificial groundwater treatment: biofilm activity and organic carbon removal performance," *Water Res.*, **38**, 740~748(2004).
12. Kogure, K., Simidu, U., and Taga, N., "A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria," *Can. J. Microbiol.*, **25**(3), 415~420(1979).
13. Yu, F. P. and McPeters, G. A., "Rapid in situ assessment of physiological activities in bacterial biofilms using fluorescent probes," *J. Microbiol. Methods*, **20**(1), 1~10(1994).
14. Amann, R., Ludwig, W., and Schleifer, K. H., "Identification of uncultured bacteria: a challenging task for molecular taxonomists," *ASM News*, **60**, 360~365(1994).
15. Amann, R., Ludwig, W., and Schleifer, K. H., "Phylogenetic and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation," *Microbiol. Rev.*, **59**, 143~169(1995).
16. Staley, J. T. and Konopka, A., "Measurement of *in situ* activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats," *Annu. Rev. Microbiol.*, **39**, 321~346(1985).
17. Alfreider, A., Pernthaler, J., Amann, R., Sattler, B., Glockner, F. O., Wille, A., and Psenner, R., "Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by *in situ* hybridization," *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**(6), 2138~2144(1996).
18. Falkentoft, C. M., Muller, E., Amz, P., Harremoes, P., Mosbak, H., Wwlderer, P. A., and Wuertz, S., "Population changes in a biofilm reactor for phosphorus removal as evidenced by the use of FISH," *Water Res.*, **36**, 491~500(2002).
19. Bouvier, T. and Giorgio, P. A. D., "Factors influencing the detection of bacterial cells using fluorescence *in situ* hybridization (FISH): a quantitative review of published reports," *FEMS Microbiol. Ecol.*, **44**, 3~15(2003).
20. Wagner, R., Erhart, R., Manz, W., Amann, R., Lemmer, H., Wedi, D., and Schleifer, K. H., "Development of an rRNA-targeted oligonucleotide probe specific for the genus acinetobacter and its application for in situ monitoring in activated sludge," *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**(3), 792~800(1994).
21. Kämpfer, P., Erhart, R., Beimfohr, C., Böhringer, J., and Wagner, M., "Characterization of bacterial communities from activated sludge: culture-dependent numerical identification versus *in situ* identification using group- and genus-specific rRNA-targeted oligonucleotide probes," *Mar. Ecol.*, **32**, 101~121(1996).
22. Snaidr, J., Amann, R., Huber, I., Ludwig, W., and Schleifer, K. H., "Phylogenetic analysis and *in situ* identification of bacteria in activated sludge," *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 2884~2896(1997).
23. Manz, W., Szewzyk, U., Ericsson, P., Amann, R., Schleifer, K. H., and Stenström, T. A., "*In situ* identification of bacteria in drinking water and adjoining biofilms by hybridization with 16S and 23S rRNA-directed fluorescent oligonucleotide probes," *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2293~2298(1993).
24. Kalmbach, S., Manz, W., and Szewzyk, U., "Dynamics of biofilm formation in drinking water: phylogenetic affiliation and metabolic potential of single cells assessed by formazan reduction and *in situ* hybridization," *FEMS Microbiol. Ecol.*, **22**, 265~279(1997).
25. Hörsch, P., Gorenflo, A., Fuder, C., Deleage, A., and Frimmel, F. H., "Biofouling of ultra- and nanofiltration membranes for drinking water treatment characterized by fluorescence *in situ* hybridization (FISH)," *Desalination*, **172**, 41~52(2005).
26. Van der Kooij, D., Visser, A., and Hijnen, W. A. M., "Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water," *J. AWWA*, **74**(10), 540~545(1982).
27. 長澤, "粒状活性炭表層における微生物の動向," 第41回 日本水道研究発表會 發表論文集, 1~3(1990).

28. APHA, AWWA, WEF, "Heterotrophic plate count," *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Eaton, A. D., Clesceri, L. S. and Greenberg, A. E.(Eds), APHA, AWWA, WEF, Washington DC, 19th ed, pp. 9-31~9-35(1995).
29. Fuhrman, J. A. and Azam, F., "Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterio-plankton production in marine surface waters: evaluation and field results," *Mar. Biol.*, **66**, 109~120(1982).
30. Parsons, T. R., Maita, Y., and Lalli, C. M., *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*, Pergamon, New York(1984).
31. Bell, R. T., Ahlgren, G. M., and Ahlgren, I., "Estimating bacterioplankton production by the [³H]thymidine incorporation in a eutrophic Swedish Lake," *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1709~1721(1983).
32. Krieg, N. R. and Holt, J. G., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilins. Baltimore (1984).
33. Amann. R., Binder, B. J., Olson. R. J., Chisholm. S. W., Devereux. R., and Stahl, D. A., "Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations," *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**(6), 1919~1925(1990).
34. Krasner, S. W., Scimmenti, M. J., and Coffey, B. M., "Testing biologically active filters for removing aldehydes formed during ozonation," *J. AWWA*, **85**(5), 62(1993).
35. Wang, J. Z., Summers, R. S., and Miltner, R. J., "Bio-filtration performance: part 1, relationship to biomass," *J. AWWA*, **87**(12), 55(1995).
36. Madigan, T. M., Martinko, J. M., and Parker, J., *Block Biology of Microorganisms*, Prentice-Hall, New York, pp. 453~460(2000).
37. 김동주, 홍선희, 안태석, "소양호에서의 세균군집구조의 계절적·수직적 변화," *한국미생물학회지*, **35**, 242~247 (1999).
38. Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., and Wangner, M., "Phylogentic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of proteobacteria: problems and solutions," *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 593~600(1992).
39. Glockner, F. O., Fuchs, B. M., and Amann, R., "Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence *in situ* hybridization," *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3721~3726(1999).
40. Stewart, M. H., Wolfe, R. L., and Means, E. G., "Assessment of bacteriological activity in carbon treatment of drinking water," *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 3822 (1990).