

## 고분자 물질 도포가 미생물 부착과 생물막 성장에 미치는 영향

박영식 · 송승구

부산대학교 화학공학과

## Effect of Polymer Coating on the Initial Microorganism Attachment and the Biofilm Growth

Young-Seek Park and Seung-Koo Song

Dept. of Chemical Engineering, Pusan National University

### ABSTRACT

The objective of this study was to examine the effect of polymer coating on the initial microorganism attachment and the biofilm growth. Such as nonion(polyacrylamine), anion(CMC-Na) and cation polymer coagulant(chitosan and PEI) were used for coating material of the support carrier(acryl plate). When polymer coagulant was coated with 5, 10, 20, 35, 50, 100 and 200 mg/l on the surface of acryl plate, initial microorganism attachment increased and optimum concentration for the attachment was 35 mg/l. Biofilm growth experiments were conducted with the substrate loading of 12.7gSCOD/m<sup>2</sup> · day using RBC. The polymer coagulants such as CMC-Na, polyacrylamide, PEI and chitosan coating on the acryl plate facilitated the biofilm growth of microorganisms. Until the biofilm dry weight grows up to 0.0038g/cm<sup>2</sup>, biofilm growth on the plate coated with cation polymer like chitosan was better than that on the coated plate of nonion(polyacrylamine), anion(CMC-Na) polymer coagulant.

**Keywords :** Biofilm growth, Microorganism attachment, Polymer coating, Chitosan

### I. 서 론

미생물은 거의 모든 고체 표면에 부착할 수 있는데, 미생물이 고체 표면에 부착하는 것은 빈 영양 환경에서 살아남을 수 있을 뿐만 아니라<sup>1)</sup> 독성 물질 등으로부터 보호받을 수 있기 때문이다.<sup>2)</sup> 미생물 부착은 부착되는 표면에 따라 좌우되므로 부착을 조절하기 위해 표면의 특성을 이용하는데 미생물의 부착에 적합하거나 부적합한 재질을 사용하여 부착을 조절하거나 부착 면을 다른 물질로 도포하여 담체의 표면 특성이 물리화학적 성질을 변화시켜 미생물 부착을 조절할 수 있다.<sup>3)</sup> 회전원판법, 유동층, 살수여상 및 고정층 반응기 등의 생물막 폐수처리공정은 미생물이 담체에 부착되어 형성된 생물막에서 유기물을 처리하기 때문에 미생물 부착은 안정된 운전을 위해서 매우 중요하다. 그러나 폐수처리 분야에 있어서 La Motta와 Hickey(1982)의 연구를 제외하고는 미생물 부착과

생물막 성장촉진에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 미생물 부착과 생물막 성장을 촉진시키기 위해서 응집제로 쓰이는 고분자 물질의 특성을 이용하여 고분자 응집제를 담체 표면에 도포시켜 초기 부착실험하였고 RBC 연속실험에 대한 영향도 관찰하여 부착 촉진 가능성을 고찰하였다.

### II. 실험재료 및 방법

#### 1. 미생물 초기 부착

미생물 부착을 촉진하기 위하여 약 음이온을 띠는 CMC-Na(carboxymethyl cellulose sodium salt), 비이온인 polyacrylamine 및 양이온인 키토산(chitosan)과 PEI(polyethyleneimine)을 담체인 아크릴 판의 도포제로 선택하였으며, CMC-Na, PEI 및 polyacrylamine을 가열하면서 물에 용해시키고, 키토산은 1M acetic acid 용액에 용해시켜서 5, 10, 20,

35, 50, 100 및 200 mg/l의 수용액으로 제조하여 아크릴 판(2.5 cm × 2.5 cm)을 합침시킨 후 전조기에서 24시간 동안 건조, 도포시키고 부착 실험을 행하였다.

### 1) 부착실험

부산광역시 소재의 수영 하수종말처리장의 반송슬러지를 사용하여 회분식 부착실험을 행하였다. 고분자 응집제가 도포된 2.5 cm × 2.5 cm 크기의 아크릴 판을 페트리 접시에 부착시키고 90 mg/l로 맞춘 활성슬러지를 페트리 접시에 투입하여 30°C에서 3시간 동안 부착 실험을 행한 후 아크릴 판을 20 ml의 증류수가 들어 있는 시험관에 넣어 4000 rpm에서 10분간 원심분리시키고, Vortex mixer(Vision KMC-1300V)에서 5분간 미생물 군집을 파쇄하였다. 파쇄된 시료 1 ml를 8.5% 생리식염수 9 ml에 넣고 10배씩 적절하게 회석하여 페트리 접시에 1 ml를 넣고 plate counter agar(Difco) 배지에서 30°C로 24시간 동안 배양 후 colony counter(Fisher Accu-lite Model 133-8002)로 배양된 미생물 군집수(CFU: colony forming unit)를 측정하였다.

### 2. 생물막 성장 실험

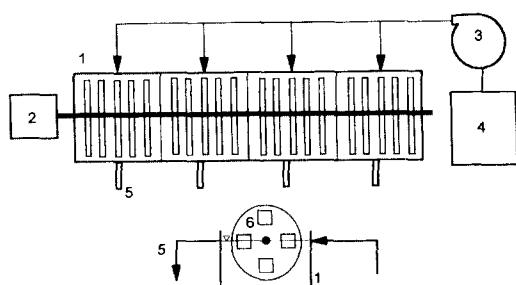
초기 부착 실험에서 각 고분자 물질에 관계없이 최적 도포 농도가 35 mg/l 정도로 나타나 최대 생물막 성장을 위해 최적 고분자 농도인 35 mg/l로 조절하고 II.1. 절과 같이 용해시켜서 아크릴 판을 합침시킨 후 전조기에서 24시간 동안 건조 도포시키고 고분자가 도포된 원판에서 생물막 성장을 관찰하였다.

#### 1) 실험장치와 운전조건

용적이 1.2 l, 4구획으로 나누어진 RBC반응기 (Fig. 1)를 사용하였으며, 온도는 20±1°C, rpm은 10 및 수리학적 체류시간(HRT)은 6시간으로 유지하였다(Table 1). 지름이 15 cm이고 두께가 3 mm인 원판에 사포로 일정하게 마모시키고, 2.5 cm × 2.5 cm 크기의 아크릴 판을 원판 끝에서 3.5 cm가 되는 지점에 12개를 부착하였다. Table 2와 같이 SCOD 400 mg/l로 조절된 폐수를 유입하였으며, 이 때의 원판 단위 표면적당 유기물 부하량은 12.7 gSCOD/m<sup>2</sup> · day이었다. 초기 생물막 형성과 성장의 상태를 관찰하였으므로 생물막이 과다 성장하여 악취를 발생시키지 않는 12.7gSCOD/m<sup>2</sup> · day정도로 부착 및 성장 실험을 수행하였다.<sup>5)</sup>

#### 2) 생물막 두께 및 생물막 건조밀도

생물막이 부착된 아크릴 판을 원판에서 분리시키고 생물막을 탈리시켜 10 ml graduated cylinder를



**1. Reactor      2. DC motor  
3. Peristaltic pump      4. Feed reservoir  
5. Outlet      6. Removable slide**

Fig. 1. A schematic diagram of a RBC reactor.

Table 1. Specifications of a rotating biological contactor

Contents	Values
Number of stage per unit operation	4
Number of disc per stage	5
Disc diameter(cm)	15
Disc thickness(cm)	0.3
Submergence(%)	40

Table 2. Compositions of synthetic wastewater  
(basis : COD<sub>cr</sub>=2500 mg/l)

Item	Value(g/l)
Glucose	4
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1
KCl	0.14
Urea	1
CaCl <sub>2</sub>	0.14
NaCl	0.3
MgSO <sub>4</sub>	0.1

사용하여 생물막 부피를 측정하고, 이를 생물막이 탈리된 부분의 원판 면적으로 나누어서 생물막 두께를 구하였다.<sup>6)</sup> 탈리된 생물막을 glass micro fiber filter에서 여과하여, 105°C에서 2시간 건조시킨 후 생물막의 건조무게를 측정하였고, 이를 graduated cylinder를 사용해서 구한 생물막 부피로 나누어서 생물막 건조밀도를 계산하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 고분자 물질 도포시 미생물 초기 부착

키토산은 천연물에서 얻어지므로 독성이 없어 주로

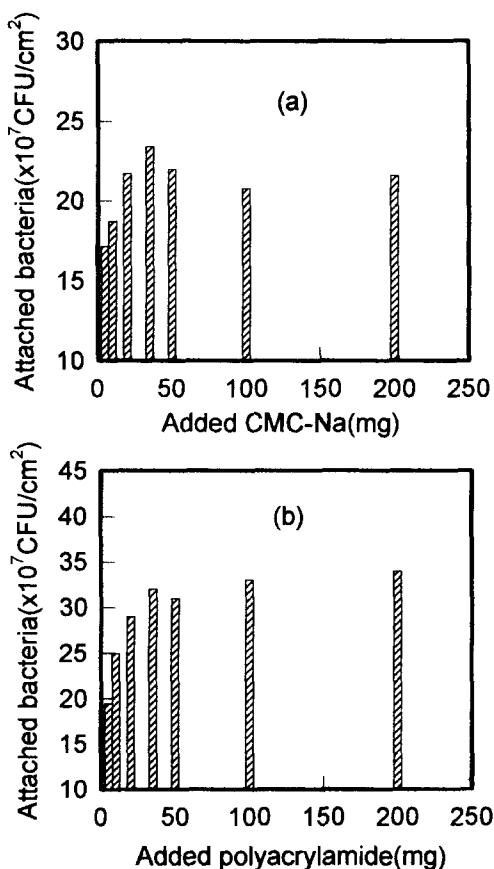


Fig. 2. Effect of CMC-Na and polyacrylamide coated on acryl plate on the bacterial attachment.

식품공업에서 사용되며, polyacrylamide 수용액은 영양분이 있으면 세균의 증식의 온상이 된다고 알려져 있으므로 미생물에 독성을 띠지 않는다고 볼 수 있으며, PEI도 미생물에 독성이 없다고 알려져 있다.<sup>7)</sup>

Fig. 2(a)에 약 음이온인 CMC-Na를 도포시킨 담체에 부착된 미생물 군집수를 나타내었는데, CMC-Na가 도포되지 않았을 때의 미생물 군집수는  $13.2 \times 10^7$  CFU/cm $^2$ 이었으나 고분자 응집제의 양이 35 mg/l로 증가됨에 따라 부착된 미생물이  $23.4 \times 10^7$  CFU/cm $^2$ 까지 증가하였으며 그 이상의 CMC-Na 농도에서 부착된 미생물 군집수가 약간 감소하는 경향을 보이고 있다.

Fig. 2(b)는 비이온성 고분자 응집제인 polyacrylamide를 도포하였을 때 부착된 미생물 군집수를 나타내고 있으며, CMC-Na로 도포된 담체에 부착된 미생물보다 더 많이 부착되었고, 35 mg/l 이상의 농도에

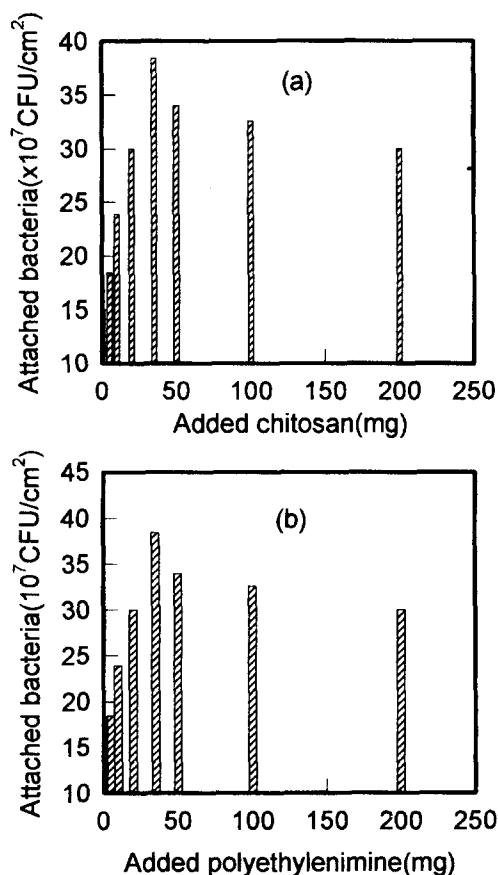


Fig. 3. Effect of chitosan and polyacrylamide coated on acryl plate on the bacterial attachment.

서 부착되는 미생물은 거의 일정하게 유지되었다.

Fig. 3(a)는 양이온성 고분자인 키토산을 담체에 도포하였을 때 부착된 미생물 군집수를 나타낸 것으로 도포가 안된 담체에 부착된 미생물에 비해 2.5배 이상의 미생물이 부착된 것을 나타내었다. 다른 양이온 응집제인 PEI(polyethylenimine)이 도포된 담체에 부착된 미생물의 변화를 Fig. 3(b)에 나타내었으며, 도포가 되지 않은 담체에 부착된 미생물보다 2.2배 정도 더 부착되었다.

음전하를 띠는 대부분의 미생물에 약 음전하를 띠는 고분자 응집제를 투여하면 음전하 간의 전기적인 반발력에 의해 응집제가 도포되지 않은 담체에 비해 담체에 부착되는 미생물이 줄어들 수 있으나 응집제와 미생물 입자간에 생기는 응집작용에 의해 도포되지 않은 담체보다 미생물 부착이 많이 된다고 볼 수 있었다. 반면 polyacrylamide의 일부 amide는 Fig.

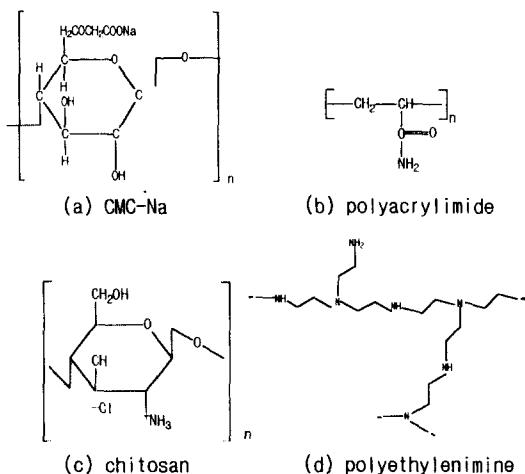


Fig. 4. Schematics of organic polymers.

4에서 보이는 바와 같이  $\text{-CONH}_3^+$ 의 형태로 존재하고 약간의 양이온성을 띠고 있지만 혼탁입자의 음전하를 중화시킬 정도가 되지 못하므로 아미드기에 의한 입자표면과의 수소결합에 의해 미생물 부착이 생기는 것이라기보다는 약 음이온 응집체에서의 부착 양상과 비슷하게 응집체와 미생물 간의 응집작용에 의한 것으로 사료되었다.

양이온 처리에 사용된 키토산과 PEI는 Fig. 4에 나타난 것처럼 amine기( $\text{-NH}_2$ )를 가지고 있어 pH에 따라  $\text{-NH}_3^+$ 의 형태로 polycation을 형성한다.

양이온성 유기 고분자 응집제의 첫 번째 작용은 polycation에 의한 zeta 전위의 전하이고, 두 번째 작용이 입자와 응집제 간의 응집력으로 사료되므로 약 음이온 응집제와 비이온성 응집제의 담체도포에 의한 부착촉진보다는 양이온성 유기 고분자의 부착 촉진 효율이 좋다고 판단되었다.

## 2. 고분자 물질 도포시 생물막 성장

생물막 성장에 미치는 고분자 물질의 영향을 고찰하기 위하여 초기 부착에서 고분자 물질을 도포하였을 때 가장 많이 부착된 35 mg/l를 원판에 도포하고 성장실험하였다. 약 음이온성 고분자 응집제인 CMC-Na, 비이온성 고분자 응집제인 polyacrylamide 및 양 이온성 고분자 응집제인 chitosan을 아크릴 원판에 도포하여 RBC에서 생물막을 성장시켰을 때 생물막 전조무게를 Fig. 5에 나타내었다. 고분자 응집제가 도포된 원판에서 성장한 생물막은 도포되지 않은 원판에서 성장한 생물막보다 전조무게가 더 무거웠다. 정상

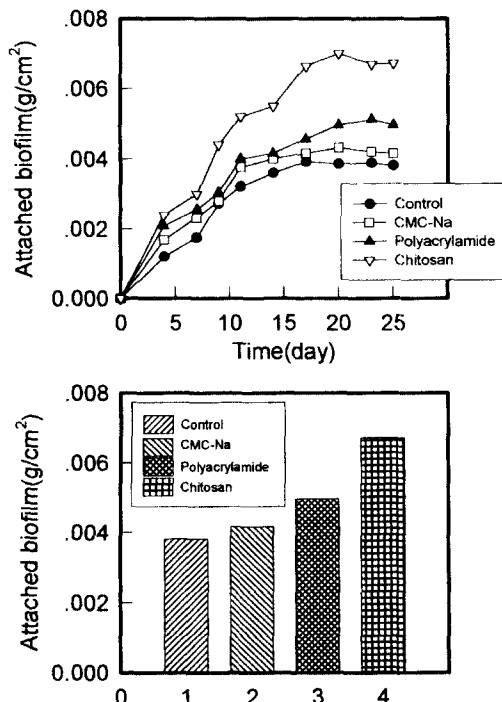


Fig. 5. Effect of polyacrylamide coating on acryl plate at the biofilm growth in RBC.

상태에 도달되었을 때 control 구획에서의 생물막 전조무게는  $0.0038\text{ g/cm}^2$ , CMC-Na가 도포된 구획에서는  $0.0042\text{ g/cm}^2$ , polyacrylamide가 도포된 구획에서는  $0.0050\text{ g/cm}^2$ , chitosan이 도포된 구획에서는  $0.0067\text{ g/cm}^2$ 이었다.

초기 부착과 생물막 성장의 경우를 비교해 보면 초기 부착에서는 CMC-Na를 도포하였을 때에도 1.8 배 더 부착되지만 생물막 성장의 경우는 1.1배 더 부착되며, 생물막 성장이 가장 좋은 chitosan 도포의 경우는 초기 부착시의 2.5배 증가에 비해서 1.8배 증가되었다. 이는 생물막 성장시에는 원판의 회전으로 인해 도포된 고분자 응집제가 씻겨 나가기 때문에 생물막 성장에 영향을 주지만 초기 부착에 비해 성장이 잘 안되는 이유인 것으로 판단되었다. 그러나 초기 부착의 경우에서와 같이 생물막 성장은 control < 음이온 고분자 응집제 < 비이온 고분자 응집제 < 양이온 고분자 응집제의 순서로 생물막이 성장하여 고분자 응집제 도포가 생물막 형성에 유리함을 알 수 있었다. 고분자 응집제가 도포되지 않은 구획에서 성장한 생물막 전조무게가  $0.0038\text{ g/cm}^2$ 에 도달되는데 17일이 소요되는데 비해 chitosan을 도포하

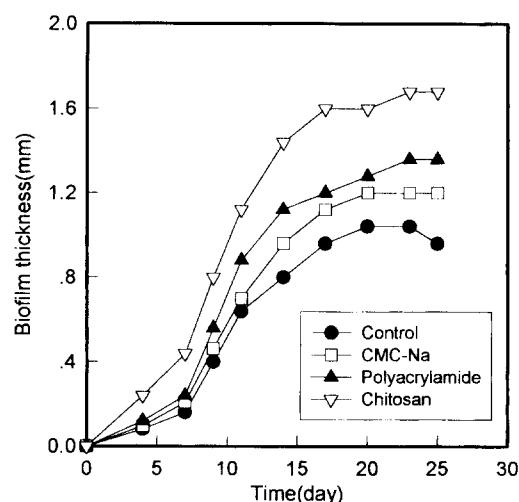


Fig. 6. Effect of polymer coating on acryl plate at the biofilm thickness in RBC.

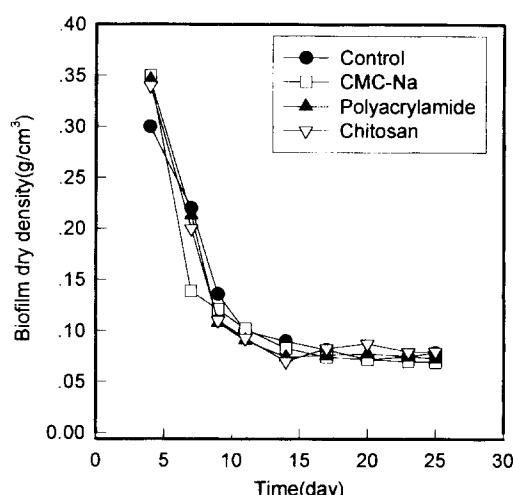


Fig. 7. Effect of polymer coating on acryl plate at the biofilm dry density in RBC.

였을 때에는 8일이 소요되어 생물막 성장시간을 줄일 수 있음을 알 수 있었다.

Fig. 6에 시간에 따른 생물막 두께 변화를 나타내었다. 고분자 응집제가 첨가되지 않은 구획에서는 정상상태에서 생물막 두께가 1.2 mm이지만 chitosan이 첨가되었을 때에는 1.7 mm까지 성장하였다.

고분자 응집제 도포에 따른 생물막 전조밀도의 변화를 Fig. 7에 나타내었다. 고분자 도포에 관계없이 생물막 전조밀도는 거의 변화가 없었다. 기질 부하 실험의 경우 기질 부하가 증가하면 생성되는 생물막

무게와 두께는 증가하지만 생물막 전조밀도가 낮아서 쉽게 탈리되기 쉽고 유출 SS가 증가하는 등 바람직하지 못한 생물막이 형성되지만,<sup>3)</sup> 고분자 응집제 도포의 경우 성장하는 생물막의 성장은 도포되지 않은 구획에서 성장한 생물막의 성장과 거의 같다고 추측되기 때문에 고분자 응집제 도포는 생물막 성장에 유리하다고 판단되며 chitosan과 같이 활성슬러지에 해롭지 않은 고분자 물질을 도포하면 안정된 생물막을 빠른 시간 내에 얻을 수 있다고 판단되었다.

#### IV. 결 론

미생물 부착과 생물막 성장을 촉진시키기 위해서 응집제로 쓰이는 고분자 물질의 특성을 이용하여 고분자 응집제를 담체 표면에 도포시켜 다음의 결론을 얻었다.

1. 고분자 물질을 담체에 도포시켜 미생물을 부착시켰을 때 control<음이온 고분자 응집제<비이온 고분자 응집제<양이온 고분자 응집제의 순서로 미생물이 잘 부착되었으며, 약 음이온 응집제와 비이온성 응집제의 담체도포에 의한 부착촉진보다는 양이온성 유기 고분자의 부착촉진 효율이 좋다고 판단되었다.

2. 미생물 초기 부착에서 미생물이 가장 많이 부착된 고분자 응집제 농도인 35 mg/l를 담체에 도포시켜 RBC에서 생물막을 성장시켰을 때, 초기 부착의 경우와 같은 양상으로 생물막이 성장하였다. 고분자 응집제가 도포되지 않은 구획에서 성장한 생물막 전조밀도가 0.0038 g/cm<sup>3</sup>에 도달되는데 17일이 소요되는데 비해 chitosan을 도포하였을 때에는 8일이 소요되어 생물막 성장시간을 줄이기 때문에, chitosan과 같이 활성슬러지에 해롭지 않은 고분자 물질을 도포하면 안정된 생물막을 빠른 시간 내에 얻을 수 있다고 판단되었다.

#### 감사의 글

이 논문은 1996년도 신진연구인력 연구장려금에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

- Marshall, K.C.: Bacterial Adhesion in Oligotrophic Habitats, *Microbiol. Sci.*, 2, 321-326, 1986.

- 2) Hoyle, B.D., J. Jass and J.W. Costerton : The Biofilm Glycocalyx as a Resistance Factor, *J. Antimicrob. Chemother.*, **26**, 1-5, 1990.
- 3) Pringle, J.H. and M. Fletcher : Influence of Substratum Wettability on Attachment of Freshwater Bacteria to Solid Surfaces, *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**(3), 811-817, 1983.
- 4) La Motta, M. ASCE, Enrique, F. Robert and J. Hickey : "Effect of Polyelectrolytes on Biofilm Growth", *J. of Environ. Eng. Div., ASCE*, **108**, 1326-1341, 1982.
- 5) 정재춘 : 생물고정화법에 의한 배수처리, 1판, 동화기술, 서울 81-82, 1991.
- 6) Zahid, W.M.K. : Physical Properties of Rotating Biological Contactor Biofilms, Ph. D. Thesis, Dept. of Civil Eng., Univ. of Toronto, Canada, 1993.
- 7) 양대창 : 미생물 고정화를 위한 효율적인 담체의 개발에 관한 연구, 서울대학교, 석사학위논문, 1995.
- 8) 박영식 : 하.폐수처리를 위한 미생물 부착과 생물막 성장 특성, 부산대 학교, 박사학위논문, 1998.