

광합성 박테리아를 이용한 폐수의 고도처리시스템개발

이상섭¹ · 주현종² · 이석찬³ · 장만⁴ · 이택견⁴ · 심호재⁵ · 신응배⁵
경기대학교 ¹생물학과, ²환경공학과, ³성균관대학교 유전공학과,
⁴한국해양연구원, ⁵한양대학교 토목 환경공학과

Development of Advanced Wastewater Treatment System using Phototrophic Purple Non-sulfur Bacteria. Lee Sang-Seob¹, Hyun-Jong Joo², Sukchan Lee³, Man Jang⁴, Taek-Kyun Lee⁴, Hojae Shim⁵ and EungBai Shin⁵. ¹Department of Biology, ²Department of Environmental Engineering, Kyonggi University ³Department of Genetic Engineering, Sung Kyun Kwan University, ⁴Korea Ocean Research and Development Institute, ⁵Department of Civil & Environmental Engineering, Hanyang University - Twenty nine strains of photosynthetic purple nonsulfur bacteria were isolated from Kyonggi area in Korea. The isolated strains were identified as *Rhodospseudomonas blastica*, *Rhodocyclus gelatinosus*, *Rhodocyclus tenuis*, and *Rhodospseudomonas rutila*. The enhanced nutrients removal system for wastewater using phototrophic purple non-sulfur bacteria was developed. Experiments were performed into two Phases and the results were compared: the synthetic wastewater was tested for the removal efficiency of nutrients and organics during Phase1 and the real wastewater during Phase2. Results showed that 97~99% of organics were removed during Phase 1 and 96~99% during Phase 2. Nutrients (nitrogen and phosphorus) were also removed efficiently: 85~91% removal of T-N and 78~92% removal of T-P were achieved for Phase 1, and 76~89% removal of T-N and 73~88% removal of T-P for Phase 2.

Key words: Nutrients removal, wastewater, photosynthetic bacteria

질소와 인 화합물(영양염류)은 가정하수, 지하수, 농경지 유출수 등에 다량 함유되어 있다. 일반적으로 2차 하수처리장에서 대부분의 유기물질과 부유물질은 제거되지만 질소, 인과 같은 영양물질의 상당량은 제거되지 않고 배출되어 방류 수역에서 식물성 플랑크톤의 과도한 증식과 부영양화를 촉진시켜 심각한 환경오염을 일으키고 있다. 따라서 전세계적으로 질소와 인 제거를 위한 다양한 공정들이 운전중이거나 개발 중에 있으나, 대부분의 공정들은 물리, 생물학적 공정을 조합해서 만들었기 때문에 유지관리가 힘들고, 유지관리비가 많이 드는 문제점이 있다고 생각된다. 따라서 보다 집약적이고 질소와 인을 동시에 제거할 수 있는 단일 공정을 개발하는 것이 매우 시급한 실정이다.

이러한 단일 공정들 중 가장 바람직한 것이 미생물을 이용한 생물학적 처리시스템이라 할 수 있다. 더욱이 처리효율이 높은 특정 미생물을 순수 분리하고 이들을 우점화한 시스템을 개발하면 폐수처리효율도 높일 수 있고, 유지관리도 쉽게 할 수 있어, 가장 이상적인 처리시스템이 될 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 광합성 균주를 이용한 시스템을 개발하여 유기물, 질소, 인의 동시 처리효율을 높이기 위하

여 실시하였다.

광합성 박테리아는 수권 미생물의 일종으로 호수나 늪의 수계 혐기층에 널리 분포하고, 때때로 호수의 표면을 적색으로 만드는 박테리아로, Ehrenberg(1836)가 *Monas okenii* (현재의 *Chromatium okenii*), *Ophidomonas jenensis*(현재의 *Thiospirillum jenense*)를 최초로 기재함으로써 알려지게 되었다. 그 후 많은 생태학적 연구에서 이들 홍색 박테리아의 증식은 빛과 황화수소의 존재와 밀접한 관계가 있다는 것을 알게 되었으며, 1931년 van Niel[17]에 의해서 이들의 광합성능이 명확히 밝혀지게 되어 그 때까지 유색 박테리아로 취급되었던 일군의 세균들이 광합성 박테리아로 불리게 되었다.

광합성박테리아 *Rhodospirillaceae*에 속하는 홍색비황 광합성 박테리아(phototrophic purple nonsulfur bacteria) 들은 기초연구로 광합성, 질소고정 그리고 수소가스 발생 등의 생리학적 연구에 많이 사용되고있다[1, 3, 12, 15, 19, 20]. 또한 응용분야로는 폐수 처리를 할 수 있고[16], 수소 발생능을 산업적으로 이용할 수 있으며[1], 또한 단백질 함량이 높아 수산 양식어의 사료와 양계의 산란율을 증가시키는 축산 사료로서의 이용[8, 7, 6] 및 유기비료로 이용될 수 있다[7]. 광합성 박테리아는 인간에 의해 오염된 환경에서도 성장할 수 있다. 광합성 박테리아는 광합성, 발효, 유기호흡, 화학합성 등 다양한 방법으로 살아갈 수 있으며 유기물 분해능도 높고, 특히 혐기, 암소에서 성장시 nitrate, nitrous oxide,

*Corresponding author
Tel. 031-249-3642, Fax. 031-251-4721
E-mail: sslee@kyonggi.ac.kr

dimethyl sulfoxide, 혹은 trimethylamine-N-oxide 등을 전자 수용체로 이용할 수가 있다. 광합성 박테리아는 유기물 농도가 높은 일반하수 뿐만 아니라 다양한 산업폐수의 자연 정화과정에서도 중요한 역할을 한다[6, 8, 9].

따라서 광합성 박테리아를 폐수처리시스템에 적용하여 시스템을 개발한다면, 유기물 분해능을 높이면서 처리시설의 공간을 줄일 수가 있고, 폐슬러지가 광합성 박테리아로 비료, 사료 등으로 유용하게 사용할 수가 있어 슬러지 처리문제를 해결할 수가 있으며, 다양한 생활방법을 갖고 있어 환경변화에도 잘 적응할 수가 있어 처리시설의 유지관리가 용이하다는 장점이 있다.

본 연구는 광합성 박테리아를 분리하여, 기존의 활성슬러지에 광합성 박테리아를 적용시켜 유기물 및 질소, 인의 동시 제거효율이 높은 3차 고도처리시스템을 개발하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

광합성 박테리아의 순수분리 및 동정

균주 분리원은 경기도내 논과 공장부근의 오염된 하천수였다. 오염수는 바닥의 흙과 함께 채취하였으며, pH는 6.6~7.4, 온도는 9.5~10.5°C, 수심은 5~10 cm였다. 기본 무기배지는 27M(DSM)[4]을 사용하였고(Table 1), 배지의 pH는 6.8로 조절하였다. 고형배지는 27 M에 agar를 1.5% 첨가하였다. 탄소원 이용실험은 malate, citrate, gluconate, glucose등을 각각 0.3%씩 넣어 사용하였다. 배지의 pH는 6.8로 조절하였다.

혐기성 배양은 액체배지를 사용한 경우에는 회전마개병이나 시험관에 배지를 채우고 질소가스를 주입한 후 사용하였고, 고형배지를 사용한 경우에는 시험관에 심층배양을 하였다. 평판배양은 anaerobic jar에서 gas pack을 사용하여 혐기성 상태를 만든 후 배양하였다(gas pack anaerobic system, BBL). 호기성 배양은 액체배지인 경우 100 ml flask에 20 ml의 배양액을 넣은 후 균을 접종하고 슝마개를 하여 진탕 배양하였다. 통성혐기성 배양은 시험관에 배지를 가득 채우고 수행하였다.

Table 1. Composition of 27 Medium [13].

Yeast extract	1.0 g
Ethanol	0.5 ml
Disodium succinate	1.0 g
Ferric citrate solution	1.0 ml
KH ₂ PO ₄	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.4 g
NH ₄ Cl	0.4 g
NaCl	0.4 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05 g
Trace element solution SL-6	1.0 ml
Distilled water	1,000 ml

배양기는 60 W 백열전구와 형광등을 2열로 켜고 배양하였다 (조도: 2,000 lux, 온도: 28°C ± 2°C). 균주들의 형태는 광학현미경(Olympus BH-2)을 사용하여 관찰하였다. 생세포 흡광대는 생세포를 원심분리하여 순수하게 얻고 배지와 같은 양의 증류수에 최종농도 60%로 sucrose 넣은 후 직접 측정하였다. 측정은 Kontron Instrument사의 Uvikon 941 plus spectrophotometer를 사용하였다.

DNA 추출방법은 Marmur [11]의 방법에 따라 실시했다. DNA sample의 흡광도를 각각 260 nm, 230 nm, 280 nm에서 측정한 후 260/280의 비율과 260/230의 비율로 DNA 순도를 검사하였다. Thermal denaturation method에 따라 260 nm에서 hyperchromism을 관찰하여 T_m을 구하고 이로서 G+C%를 계산 하였다[10].

폐수고도 처리용 광합성 박테리아의 스크린 및 특성연구

폐수고도처리에 적용할 광합성 박테리아는 탄소원 실험결과를 토대로 다양한 탄소원을 이용할 수 있는 균주를 우선적으로 선별하였다.

저농도(CODcr : 200 mg/l) 합성 유입수 (Table 2, A) 에서 빛과 산소유무에 따른 선별균주의 유기물 제거율을 조사하였다. 실험은 광합성 박테리아를 1 g/l의 농도로 합성폐수에 섞어 5 l 회분식 반응기에 주입한 후 일련의 배양과정을 통하여 유기물 제거율을 조사하였다. 명처와 암처에서 각각 호기와 혐기조건에서 유기물 제거율을 조사하였다. Sample은 시간별로 채취하였고, HACH(Colorimetric Method)의 실험방법을 이용하여 유기물, 암모니아성 질소, 질산성 질소, 인을 측정하였다. 초기 pH조건은 7.0으로 유지 하였다.

광합성 박테리아 농도에 따른 유기물 제거능 변화는 명처 호기조건에서 광합성 박테리아를 원심분리하여 함수중량으로 0.5 g/l, 1 g/l, 4 g/l, 8 g/l의 농도로 5 l 회분식 반응기에 넣고 배양하며, 시간별로 sample을 채취하여 분석하였다. 광합성 박테리아의 유기물 및 암모니아성 질소, 질산성 질소, 인에 대한 제거율 측정은 광합성 박테리아를 1 g/l의 농도로

Table 2. Composition of synthetic wastewater.

A		B	
Yeast extract	0.1 g	NH ₄ Cl	0.096 g
Absolute ethanol	0.1 ml	KH ₂ PO ₄	0.011 g
Disodium succinate hexahydrate	0.1 g	Glucose	0.117 g
NH ₄ Cl	0.076 g	Na ₂ CO ₃	0.040 g
KH ₂ PO ₄	0.007 g	Isomil	1.5 ml
NaCl	0.4 g	Distilled water	1000ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.4 g	pH	6.8
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05 g		
Ferric citrate solution (5%)	1 ml		
Trace element solution (SL-6)	1 ml		
Distilled water	1000 ml		
pH	6.8		

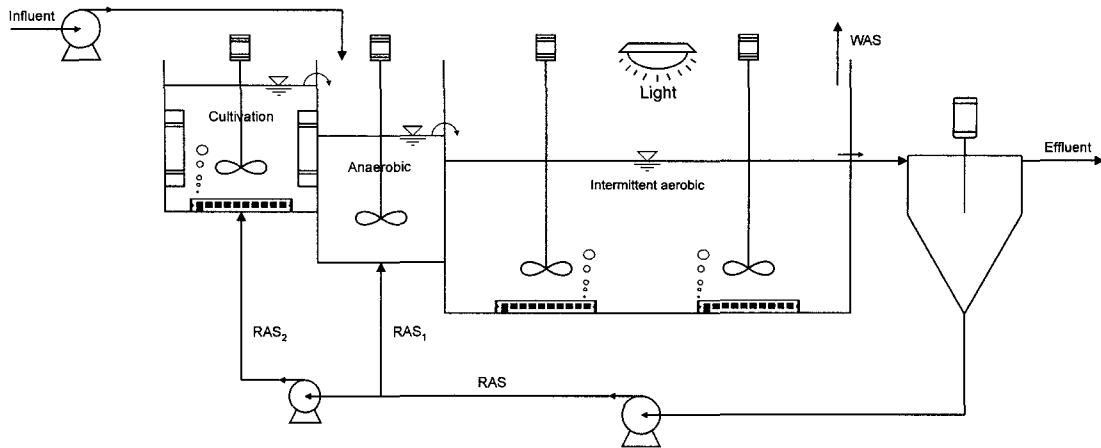


Fig.1. Schematic diagram of a bioreactor.

합성폐수에 섞어 21 회분식 반응기에 주입한 후 조명하에 포기상태를 유지하며, sample은 시간별로 채취하여, HACH의 실험 방법을 이용하여 측정하였다.

광합성 박테리아의 우점화

광합성 박테리아를 1씩 배양하고 배양액을 폐수로 교환한 후 일주일에 1회씩 배양조에 접종하였다. 다음 접종 전 시료를 채취하여 우점화 정도를 확인하였고, 그 구체적인 방법은 다음과 같다. 포기조슬러지 20 ml을 70 Hz의 강도로 1회 3분씩 총 3회 sonication을 실시했다. 멸균수를 이용해서 dilution을 한 후 희석된 시료들 중 10⁻⁴~10⁻⁷사이의 시료들을 pore size 0.2 μm의 membrane에 여과시킨 후 membrane을 각 조건에 맞는 고체선택배지에 접종했다. 광합성 박테리아의 집락은 붉은 색이므로 형성된 일반 균주 집락과의 구별되는 특징을 이용하여 집락수의 비율을 구해서 우점화 정도를 확인하였다.

폐수처리 장치 및 방법

광합성 박테리아를 이용한 폐수의 고도처리 반응기는 유입수조, 반응조, 침전조로 구성되었으며, 각각의 부피는 100, 15, 3로 아크릴을 사용하여 제작하였고, 처리 공정도는 Fig. 1에 나타내었다. 반응조는 A²/O공정을 변형한 혐기조와 간헐포기 공정으로 운전하였고, 혐기조 앞단에 배양조를 설치하여 광합성 박테리아가 혐기조와 간헐포기조에서 우점화 되도록 하였다. 또 광합성 박테리아가 첨가된 반응기에는 광합성 작용이 원활하게 일어날 수 있도록 간헐포기조에 일정한 거리를 두고 빛을 비추주었다.

반응기는 간헐포기 형태(30분 포기, 30분 비포기)로 운전하여 SRT는 20일로 고정하였으며, 공정에 대한 평균 COD_{Cr} 용적부하는 0.4 kg COD_{Cr}/m³/d이고, F/M비는 0.14 mg BOD₅/mg MLVSS/d로 유지하였다. 유입유량은 50 l/d로 조절하였고, 반송율은 100%로 하였다. 배양조, 혐기조 간헐포

Table 3. Characteristics of synthetic wastewater and domestic wastewater.

Characteristics	Synthetic wastewater	Domestic wastewater
PH	7.3	7.0~7.5
Temp.(°C)	15	14~18
BOD ₅ (mg/l) total	150	100~250
soluble	80	60~120
COD _{Cr} (mg/l) total	200	250~330
soluble	120	80~150
Ammonia (mg/l)	25	20~30
PO ₄ ³⁻ -P (mg/l)	5	1.0~2.0
TSS (mg/l)	220	250~300
Alkalinity (mg/l as CaCO ₃)	250	190~260

기조, 침전조의 체류시간은 각각 24시간, 1시간, 4시간, 3시간으로 설정하였다. 반응기의 MLSS 농도는 3,000~4,000 mg/l로 유지하였고, 배양조에 10%, 혐기조에 90% 반송하여 운전하였다.

실험은 두 단계로 나누어 수행되었는데 Phase1은 광합성 박테리아가 영양염류 제거효율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 최적 조건에 도달할 수 있는 합성폐수 (Table 2, B)를 제조하여 안정화 단계에서의 처리효율을 비교하였고, Phase2는 실험수의 처리효율을 비교하기 위하여 수원시 연무동의 생활오수를 유입수로 사용하였다 (Table 3).

분석방법

분석은 미국 EPA의 Standard Methods[5]에 준하여 실시하였다. 유기물의 농도는 주 3회씩 유입수와 유출수를 채취하여 TBOD₅와 SBOD₅를 측정하였으며, BOD를 측정하지 않은 날에는 Closed Reflux, Colorimetric Method를 이용하여 COD_{Cr}로 대체하였다. 그밖에 Org-N은 Macro-Kjeldahl

Table 4. Utilization of single organic substrates and electron donors by each strains.

Substrate	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314
Citrate	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	+	+	+	-	-	-
Thiosulfate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-
Mannitol	+	-	+	-	+	+	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Propionate	(+)	+	-	+	-	-	-	(+)	-	+	+	+	-	-	-
Malate	+	+	+	(+)	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Acetate	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	-	+	(+)	+	+	+	-	-	+	+	+	(+)	(+)	(+)
Glycerol	+	-	+	-	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	+
Gluconate	-	(+)	-	(+)	(+)	-	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	(+)	-	+	-	-	-	(+)	-	+	+	+	-	-	-
Fumarate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tartrate	-	-	-	-	-	+	+	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-
Carproate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	(+)	-	-
Aspartate	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Valelic acid	(+)	(+)	-	+	-	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)
Pyruvate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Benzoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carprylate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Formate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	+	+	+
Butyrate	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+	+	+	-	-	-
Citrate	-	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Thiosulfate	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	-
Manitol	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	(+)	-
Glucose	(+)	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Propionate	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	(+)	+	-
Malate	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+
Acetate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	(+)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+	+	+	-	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	-
Gluconate	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	-	+	+	+	-	+	-	+	+
Arginine	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	(+)	+	+	+
Fumarate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tartrate	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	-	-	-
Carproate	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-
Aspartate	-	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	-	+	+	+	+
Valelic acid	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	+	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+
Pyruvate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+
Benzoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carprylate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Formate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-
Malonate	+	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-
Butyrate	-	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+

Optical density(OD) at 650: -=0.01, (+)=0.10, 2, +=0.2

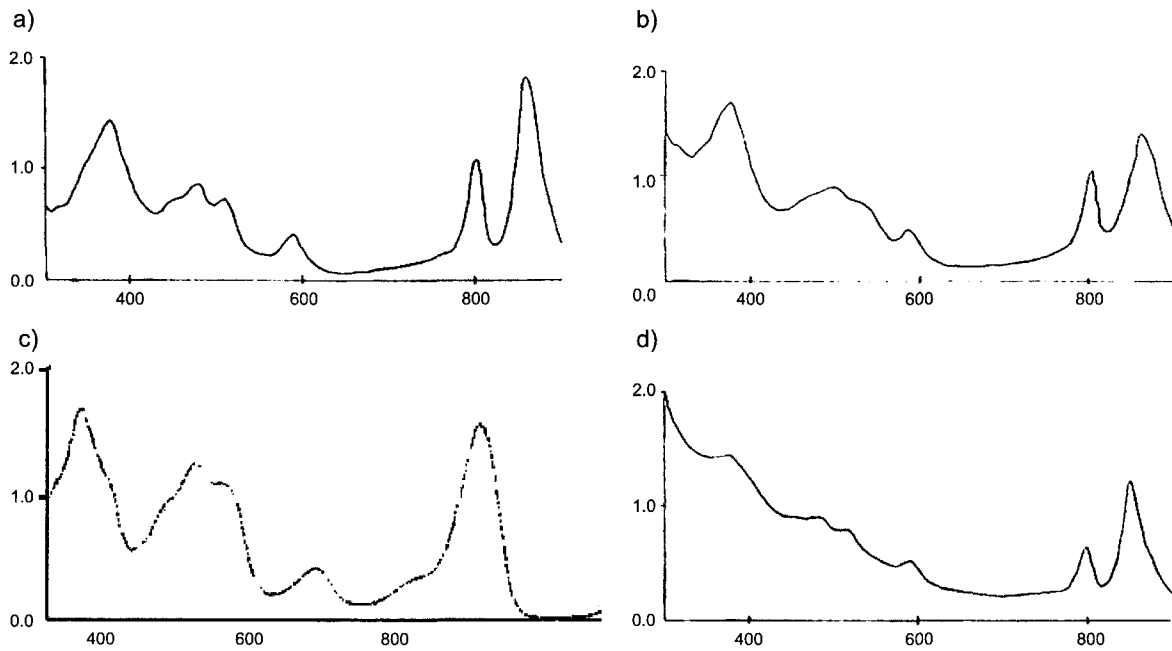


Fig.2. Absorption spectra of *Rhodospirillum rubrum* KS-300 (a), *Rhodospirillum rubrum* KS-307 (b), *Rhodospirillum rubrum* KS-317(c), and *Rhodospirillum rubrum* KS-312(d). A sample of the culture were added 60% sucrose for spectroscopic examination.

Method로 주3회 측정하였으며, NH₃-N과 NO₃-N, T-P는 Spectrophotometer(HACH DR/2010)를 사용하여 흡광광도법으로 매일 1회씩 측정하였다. MLSS, MLVSS는 매일 측정하였고, TSS는 Method 2540D, VSS는 Method 2540E, SVI는 Method 2710D로 각각 측정하였다. 그리고 DO는 DO meter(YSI 58)를 이용하여 측정하였고 pH는 pH meter(Orion Model SA720)를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

광합성 박테리아 분리 및 동정

경기도내 논과 공장부근의 오염된 하천으로부터 광합성 박테리아 29 균주를 분리하고, 이들 중 Van Niel[18]과 Bergey's manual of systematic bacteriology[17]의 분류 key에 따라 KS-300, 301, 302, 303, 304, 305, 316, 321, 322, 323, 326, 327, 328은 *Rhodospirillum rubrum*로, KS-317, 318, 319, 325는 *Rhodospirillum rubrum*로, KS-307, 308은 *Rhodospirillum rubrum*로, KS-306, 312, 313, 314, 315는 *Rhodospirillum rubrum*로 동정되었다. 나머지 5개의 균주 KS-309, 310, 311, 320, 324는 미동정 되었다.

*Rhodospirillum rubrum*로 동정된 균주는 Gram 음성이며, 편모운동을 하였다. 형태는 난형이며 크기는 폭이 0.8~1.0 μm, 길이 1.0~1.5 μm이었다. 배양액의 색은 갈색, 적갈색으로 나타났으며, 분열은 2분법으로 하였다. 이들이 이용할 수 있는 탄소원을 Table 4에 명시하였다. 색소는 기존의 문헌들[2,13]에 따라 약간씩의 차이는 있으나 결과는

bacteriochlorophyll a의 peak는 859 nm, 801 nm, 590 nm, 377 nm에서 나타났고, carotenoid는 505 nm, 479 nm 부근에서 나타났다(Fig. 2a). (G+C)%는 64.9로 나타났다 (Table 4).

*Rhodospirillum rubrum*로 동정된 균주(KS-307, 308)는 Gram 음성 반응을 나타내며 편모 운동을 하였다. 운동은 배양 초기에 나선균으로 활동성이 강하다. 형태는 기는 실모양의 나선형태로 초기에는 짧은 나선균이 대부분이며 5일 이상된 균에서는 굵는 정도가 강해지고 긴 것이 관찰된다. 가끔 Cluster를 형성하여 운동성이 약해짐을 볼 수 있다. 크기는 폭 0.3~0.4 μm, 길이 4.0~6.0 μm 정도였으며 일부 10 μm 이상도 관찰 되었다. 배양액이 갈색으로 나타났으며 분열은 이분법으로 하였다. 이들이 이용할 수 있는 탄소원을 Table 4에 명시하였다. 색소는 기존의 문헌들[2, 13]에 따라 약간씩의 차이는 있으나 본 실험에서는 bacteriochlorophyll a의 peak는 851 nm, 799 nm, 589 nm, 383 nm 부근에서 나타났고, carotenoid는 490 nm 부근에서 나타났다(Fig. 2b). 생장은 pH 5.8~8.2에서 잘 자랐으며 (G+C)%는 63.9로 나타났다(Table 5).

*Rhodospirillum rubrum*로 동정된 균주(KS-317, 318, 319, 325)는 Gram 음성반응을 하고 편모운동을 하였다. 운동성은 배양초기에 간균으로 활발히 움직이나 오래 될수록 cluster형성 운동성이 약해진다. 형태는 초기에는(계대배양 3일 후) 굵고 짧은 간균이 대부분이며 7일 이후에는 가늘고 긴 간균형(3.0~5.0 μm)으로 변하는 것과 가끔 길이가 10 μm 이상 되는 긴 것도 관찰되었다. 일부는 cluster를 형성하였고 이것은 운동성이 매우 약하였다. 크기는 폭이 0.2~0.5 μm 정

Table 5. The DNA G+C of phototrophic purple nonsulfur bacteria in DSC.

Species	Strains	T _m	G+C%
<i>Rhodospseudomonas blastica</i>	KS 301	80.0	63.7
	KS 302	79.9	63.4
	KS 304	80.0	63.7
	KS 305	80.5	64.9
	KS 322	79.8	63.2
	KS 323	79.8	63.2
	KS 328	80.2	63.2
	<i>Rhodocyclus gelatinosus</i>	KS 317	82.5

도, 길이가 2.0~5.0 μm 정도였으며, 큰 것은 10 μm 이상도 관찰할 수 있었다. 배양액 색이 분홍색으로 나타났으며 분열은 이분법으로 하였다. 이들은 gelatin liquefaction (2%) 반응이 일어났다. 이들이 이용할 수 있는 탄소원을 Table 4에 명시하였다. 색소는 기존의 문헌들[2, 13]에 따라 약간씩의 차이는 있으나 본 실험에서는 bacteriochlorophyll a의 peak는 862 nm, 804 nm, 589 nm, 376 nm 부근에서 나타났고, carotenoid는 498 nm 부근에서 나타났다(Fig. 2c). 생장은 pH 5.8~8.2에서 잘 자랐으며 (G+C)%는 69.8로 나타났다(Table 5).

*Rhodospseudomonas ruila*로 동정된 균주(KS-306, 312, 313, 314, 315)는 Gram 음성 반응을 나타내며 편모 운동을 하였다. 형태는 간형으로 크기는 폭 0.2~0.4 μm, 길이 2.0~3.0 μm 정도였다. 배양초기에는 짧고 굵으나 점차 길이가 길어지며 cluster를 형성하며 운동성도 약해진다. 이들은 gelatin liquefaction에 반응하지 않았다. 배양액은 적색이며 공기와 접하면 더욱 붉게 변한다. 이들의 탄소원 이용도를 Table 4에 명시하였다. 색소는 기존의 문헌들[2, 13]에 따라 약간씩의 차이는 있으나 본 실험에서는 bacteriochlorophyll a의 peak는 851 nm, 799 nm, 589 nm, 383 nm 부근에서 나타났고, carotenoid는 490 nm 부근에서 나타났다(Fig. 2d).

한편, 미동정균 KS-309, 310, 311, 324는 간형으로 폭 0.5~0.8 μm 길이 2.0~3.0 μm이었으며, 배양액은 황토색이었다. Gram 음성 반응을 나타내며 편모 운동을 하였다. 이들의 탄소원 이용도는 Table 4에 명시하였다.

광합성 박테리아 스크린 및 특성

폐수처리에 적용할 광합성 박테리아는 1차적으로 분리균주들의 탄소원 이용결과(Table 4)를 바탕으로 다양한 탄소원을 이용할 수 있는 혼합균주들(KS-309,310,311,312,313,314, 322,323,324)을 선정하였다. 이들 광합성 세균들의 명기/암기와 혐기/호기 조건의 변화에 따른 유기물 제거효율을 조사하였다(Table 6). 광합성 박테리아의 유기물 제거효율은 명기/호기, 암기/호기, 명기/혐기, 암기/혐기 순으로 높은 것으로 나타났다. 광합성 박테리아는 다양한 대사능력을 갖고 있으므로 호기시는 주로 호흡에 의하여 유기물을 제거하였고, 혐기시는 명처에서 광합성을 하므로 유기물 분해능이

Table 6. Comparison of COD removal efficiency of photosynthetic bacteria at the light and oxygen conditions (unit :mg/l).

Time (h)	Light/aerobic	Light/anaerobic	Dark/aerobic	Dark/anaerobic
0	185.6	226.7	166.3	185.6
12	15.5	71.6	20.3	91.5
24	12.7	40.6	17.8	73.7

Table 7. The comparison of COD removal efficiency of photosynthetic bacteria at different bacterial concentrations (unit :mg/l).

Time (h)	Bacterial concentration							
	0.5g/l		1.0g/l		4.0g/l		8.0g/l	
	COD (mg/l)	Rem. (%)	COD (mg/l)	Rem. (%)	COD (mg/l)	Rem. (%)	COD (mg/l)	Rem. (%)
0	200.0	200.0	200.0	200.0				
2	124.6	57.0	109.3	59.8	111.8	54.2	129.6	49.0
4	81.3	72.0	55.9	79.5	96.6	60.4	114.4	55.0
6	71.2	75.5	50.8	81.3	91.5	62.5	106.8	58.0
8	48.3	83.3	30.5	88.8	83.9	65.6	89.0	65.0
10	7.8	93.9	5.1	98.2	104.2	57.3	81.3	68.0

Table 8. The results of removal efficiency for SCOD_{cr}, NH₃-N, NO₃-N and PO₄³⁻ by photosynthetic bacteria (1 g/l).

Time (h)	SCOD _{cr} (mg/l)	Rem. (%)	NH ₃ -N (mg/l)	Rem. (%)	NO ₃ -N (mg/l)	Rem. (%)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	Rem. (%)
0	200.0	0.0	21.5	0.0	0.9	0.0	5.1	0.0
2	200.0	0.0	20.3	5.8	0.8	0.0	3.6	29.4
4	147.4	30.1	21.5	0.0	0.8	0.0	3.2	37.3
6	119.5	43.3	14.8	31.4	0.8	0.0	1.3	75.5
8	68.6	67.5	10.8	50.0	0.8	0.0	0.3	94.1
10	12.7	94.0	9.3	57.0	0.7	0.0	0.3	94.1

높은 것으로 사료되며 암처에서는 가장 낮은 제거율을 보였다.

광합성 박테리아의 농도변화에 따른 유기물 제거효율을 Table 7에 제시하였다. 합성폐수의 유기물 제거능이 가장 높은 광합성 박테리아의 농도는 1 g/l이었다. 0.5-1.0 g/l의 박테리아 농도에서는 약 93-98%의 제거효율을 얻은 반면, 4 g/l와 8 g/l의 고농도에서는 오히려 제거율이 감소하여 57-68%의 제거효율을 보였다. 즉 균체량이 많을수록 제거효율이 높은 것이 아니라는 것을 의미한다.

세포농도 1 g/l에서 합성폐수의 유기물 및 무기물 제거효율을 조사하였다(Table 8). 광합성 박테리아의 유기물과 인 제거능은 각각 93.99%와 94.12%로 매우 높게 나타났다. 그러나 암모니아성 질소는 56.98%, 질산성 질소는 거의 중감없이 나타났다. 이는 광합성 박테리아가 암모니아성 질소를 질산화 과정으로 변환시키는 것이 아닌 세포합성에 이용하는 것으로 판단되어진다.

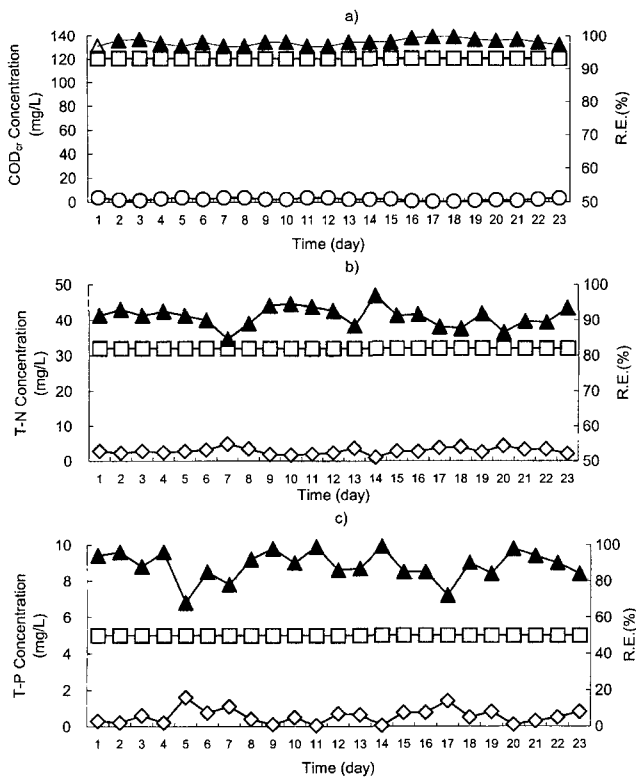


Fig. 3. Chronological CODcr(a), T-N(b), and T-P(c) concentration profile in phase 1. (□: influent, ◇:effluent, ▲ :removal efficiency).

합성폐수의 처리효율

반응기의 유기물 제거는 97~99%로 비교적 높은 처리율을 나타내었다(Fig. 3a). 이는 유입수의 유기물 원으로 광합성 박테리아가 쉽게 섭취 분해할 수 있는 탄소원을 사용했기 때문이며, 광합성 균주 배양시 배지로 사용했던 성분이므로 반응조내 유기물을 안정적으로 제거 할 수 있는 것으로 사료된다. 반응기의 유기물 제거능이 뛰어난 또 하나의 이유는 분리 동정한 광합성 박테리아 중 다양한 탄소원을 이용할 수 있는 균주를 선택하여 사용하였으며, 또한 회분식 실험을 통하여 확인하였듯이(Table 8) 이들의 유기물 제거능이 높다는 점이다. T-N은 제거율이 85~97%로 높은 제거율을 나타내었으며(Fig. 3b), T-P역시 68~99%의 제거율을 나타내었다(Fig. 3c). 다른 고도 처리 공정과 비교하였을 때 영양 염류의 제거율이 60~85% 정도임에 반하여 광합성 균주를 첨가한 반응기의 영양 염류 제거율은 65~97% 정도로 높게 나타나고 있다. Table 8에 실험결과에 의하면 영양염류 제거효율을 높이는데 광합성 박테리아가 중요한 역할을 할 것이라 판단할 수 있다. 광합성 박테리아는 수권 미생물의 일종으로 광합성능을 갖는 매우 다양한 박테리아의 집단으로 photoautotrophic 성장을 할 뿐만 아니라, 종과 환경 조건에 따라 photoheterotrophic, chemolithotrophic, 그리고 chemoheterotrophic 으로서도 성장이 가능하다. 즉 광

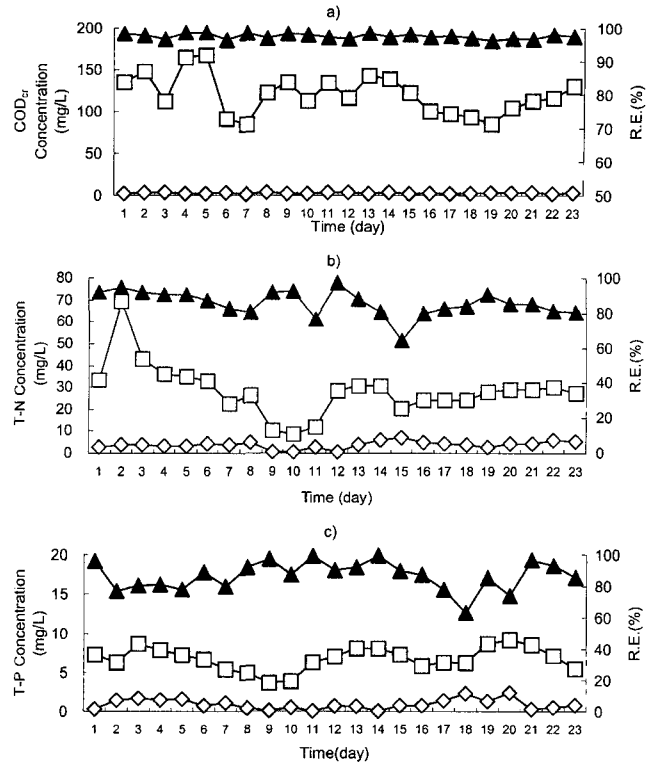


Fig. 4. Chronological CODcr(a), T-N(b), and T-P(c) concentration profile in phase 2. (□: influent, ◇:effluent, ▲ :removal efficiency).

합성을 하면서도 다양한 유기물을 효율 높게 이용할 수가 있으며, 자연계에서도 유기물 농도가 높은 일반하수 뿐만 아니라 다양한 산업폐수의 자연 정화과정에서 중요한 역할을 한다. 본 연구에서 우점화 한 광합성 박테리아는 홍색비황 광합성 박테리아로 photoorganotrophic 성장을 할 수 있기 때문에 다양한 유기물 분해능을 갖고 있고 이로 인하여 유기물 제거능이 높아진 것 같다. 암처 혐기 배양에서 몇몇 광합성 박테리아는 전자 수용체로서 nitrate, nitrite, nitrous oxide, dimethylsulfoxide, trimethylamine-N-oxide 등을 이용하여 살아가므로 질소제거에도 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각된다.

실폐수의 처리효율

Phase2에서는 광합성 균주를 첨가한 반응기가 안정화 되는데 많은 시간이 소요되었다. 특히 초기 유입수의 유기물 및 영양 염류의 농도 편차가 크게 나타나 적절한 F/M비의 유체가 요구되었다. 안정화 기간이 지난 후 방류수 수질에 적합한 안정적인 처리수를 확보할 수 있었다. 반응조의 MLSS는 2500~3500 mg/로 유지 되었으며, MLSS/MLVSS는 75~90%로 측정되었다. 실폐수에서의 유기물 및 영양 염류 제거 결과를 Fig. 4a, b, c에 도시하였다. Fig. 4a에서 유입수 유기물 농도 변화가 크게 나타나는 반면 유출수에서는

안정적인 처리율을 나타내고 있다. 이는 반응조내 광합성 균주가 최적 조건으로 운전되고 있는 상태에서 실패수를 단계별로 유입시켜 실패수내 유기물에 대한 적응을 최대한 고려하였으며, 완전한 실패수 전환시 적정 F/M로 운전하여 미생물의 최적 부하 조건을 형성하였기 때문이라 사료된다. Fig. 4b에서 유기물 농도와 마찬가지로 유입수내 질소 농도 역시 부하 변동이 크게 나타나고 있으나, 유출수 농도를 비교하였을 때 Phase1과 같은 수질을 확보할 수 있었다. 이는 반응조내 광합성 박테리아가 질소 부하 변동에도 안정적으로 반응하는 것으로 사료된다. Fig. 5c에서 유입수 인의 농도와 유출수 인의 농도 변화율이 같게 나타나고 있다. 이는 광합성 균주가 일정량의 인을 섭취하는 것으로 사료되며, 인의 제거는 다른 활성 슬러지 공법과 같이 슬러지 폐기로서 제거한다. 유기물은 96~99% 제거되었고, T-N과 T-P 역시 각각 65~95%, 63~99%의 제거율을 나타내었다. 유기물의 변화가 크게 나타남에도 불구하고 처리수에서는 안정적인 수질을 유지할 수 있었으며, 탈질에 사용되는 유기물 공급 역시 원활하게 이루어질 수 있었다. 이는 활성 슬러지에 사용되는 미생물 보다 광합성 미생물이 유입수 수질 변동에도 적절하게 대응할 수 있기 때문인 것으로 사료된다.

위에서도 설명한 것처럼 광합성 박테리아는 환경조건에 따라 광합성, 발효, 유기 호흡, 화학합성 등 다양한 방법으로 적응하여 살아갈 수 있다. 그러므로 환경변화가 심한 조건에서도 사멸하지 않고 어느 정도는 적응이 가능한 것이 큰 장점이고, 그렇기 때문에 유기물 농도가 낮거나 불안정한 조건에서도 안정하게 수처리를 할 수 있는 것으로 사료된다.

요 약

한국의 경기도 일대의 하천으로부터 광합성 박테리아 29 균주를 분리하였다. 분리균주들은 *Rhodospseudomonas blastica*, *Rhodocyclus gelationsus*, *Rhodocyclus tenuis*, *Rhodospseudomonas rutila*로 동정되었다. 분리 동정된 광합성 박테리아들을 이용한 하수내 영양 염류 제거효율을 높이기 위한 고도처리 시스템을 연구하였다. 광합성 세균을 이용한 고도처리 시스템을 이용하여 합성폐수의 유기물 제거율 97~99%, T-N 제거율 85~97%, T-P 제거율 68~99%를 얻을 수 있었다. 또한, 실패수의 경우 유기물 제거율 96~99%, T-N 제거율 65~95%, 및 T-P 제거율 63~99%의 높은 폐수처리율을 얻을 수 있었다.

감사의 말

이 논문은 1997학년도 경기대학교 해외파견 연구비 지원에 의해서 연구되었습니다.

REFERENCES

1. Arp, D. J. and W. G. Zumpt. 1983. L-methionine-SR-sulfoximine as a probe for the role of glutamine synthetase in nitrogenase switch-off by ammonia and glutamine in *Rhodospseudomonas palustris*. *Arch. Microbiol.* **134**: 17-22.
2. Biebl, H. and G. Drews. 1969. Das in-vivo-spectrum als taxonomisches Merkmal bei Untersuchungen zur Verbreitung von *Athiorhodaceae*. *Zentralblatt.* **123**: 425-452.
3. Brune, D. C. and H. G. Truper. 1986. Noncyclic electron transport in chromatophores from photolithotrophically grown *Rhodobacter sulfidophilus*. *Arch. Microbiol.* **145**: 295-301.
4. Claus, D., P. Lack, and B. Neu. 1983. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen. 265-307.
5. Eaton, A. D., L. S. Clesceri, and A. E. Greenberg. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. American Public Health Association.
6. Kobayashi, M. 1970. Treatment and remediation of waste solution by photosynthetic bacteria. *Chemistry and Biology*, Japanese Society of Agricultural Biological Chemistry. **8**: 604-613.
7. Kobayashi, M. and M. Z. Hague. 1971. Contribution to nitrogen fixation and chloroacetanilide herbicides: Distributed anilines and nitrosobenzenes as mammalian metabolites and bacterial mutagens. *J. Agric. Food Chem.* **34**: 157-161.
8. Kobayashi, M. and Y. T. Tchan. 1973. Treatment of industrial waste solutions and production of useful by-products using a photosynthetic bacterial method. *Wat. Res.* **7**: 1219-1224.
9. Kobayashi, M., K. Fujii, I. Shimamoto, and T. Maki. 1978. Treatment and reuse of industrial waste water by phototrophic bacteria. *Prog. Water Tech.* **11**: 279-284.
10. Mandel, M., E. R. Leadbetter, N. Pfennig, and H. G. Truper. 1971. Deoxyribonucleic acid base compositions of phototrophic bacteria. *Int.J.Syst.Bacteriol.* **21**(3): 222-230.
11. Marmur, J. 1961. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J.Mol.Biol.* **3**: 208-218.
12. Nieth, K. F. and G. Drews. 1974. The protein patterns of intracytoplasmic membranes and reaction center particles isolated from *Rhodospseudomonas capsulata*. *Arch. Microbiol.* **96**: 161-174.
13. Pfennig, N. 1969. *Rhodospseudomonas acidophila*, sp. n., a new species of the budding purple nonsulfur bacteria. *J. Bacteriol.* **99**: 597-602.
14. Pfennig, N. and H. G. Truper. 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume . The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1635-1709.
15. Serebrayakova, L., T. E. A. Teslya, I. N. Gogotov, and E. N. Kontrateva. 1980. Nitrogenase and hydrogenase activity of the members of the nonsulfur purple bacteria *Rhodospseudomonas sphaeroides* and *Rhodospseudomonas capsulata*. *Mikrobiologie.* **49**: 401-407.
16. Siefert, E., R. L. Irgens, and N. Pfennig. 1978. Phototrophic

- purple and green bacteria in a sewage treatment plant. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 38-44.
17. van Niel, C. B. 1931. On the morphology and physiology of the purple and green sulphur bacteria. *Arch. Microbiol.* **3**: 1-112 .
18. van Niel, C. B. 1944. Culture, general physiology, morphology and classification of the nonsulfur purple and brown bacteria. *Bacteriol. Rev.* **8**: 1-118.
19. Varga, A. R. and L. A. Stehelin. 1985. Membrane adhesion in photosynthetic bacterial membranes. Light harvesting complex 1(LHI) appears to be the main adhesion factor. *Arch. Microbiol.* **141**: 290-296.
20. Weaver, P. F., S. Lien, and M. Seibert. 1980. Photobiological production of hydrogen. *Solar Energy.* **24**: 3-45.
- (Recieved Mar. 4, 2002/Accepted June 7, 2002)**