

Bacillus와 내생포자 발아가 유기물 제거에 미치는 효과

남지현 · 배우근* · 이동훈†

충북대학교 미생물학과 및 바이오연구소 · *한양대학교 토목환경공학과

(2006년 12월 15일 접수, 2007년 1월 29일 채택)

Effects of *Bacillus* and Endospore Germinations on Organic Matter Removal

Ji-Hyun Nam · Wookeun Bae* · Dong-Hun Lee †

Department of Microbiology and the Biotechnology Research Institute, Chungbuk National University

*Department of Civil and Environmental System Engineering, Hanyang University

ABSTRACT : The Bio Best *Bacillus*(B3) and Rotating Activated *Bacillus* Contactor(RABC) processes, in which *Bacillus* strains are predominating, are reported to remove nitrogen and phosphorus as well as organic matter effectively. Nevertheless the nutrient removal characteristics of the *Bacillus* strains have not been studied in detail so far. This study investigated the organic and nutrient removal by *Bacillus* strains, *Bacillus megaterium*(KCTC 3007), *Paenibacillus polymyxa*(KCTC 3627), and *Bacillus* sp. A12, C21, F12, and L1(isolated from a B3 process), by incubating the strains in 0.2% nutrient broth at 30°C. *Burkholderia cepacia*(KCTC 2966), a common activated sludge organism, was used as a reference species for comparison. Although the degradation rate was affected by the population size, the specific removal rates of organic matter by *Bacillus* strains were greater by 2~5 times than that of *Burkholderia*. In particular, the culture bottles inoculated with the endospores of *Bacillus megaterium* and *Bacillus* sp. C21, F12, and N12 showed significantly higher degradation rate than those of vegetative cells.

Key Words : *Bacillus*, Endospore, Germination, Organic Matter Removal

요약 : B3(Bio Best *Bacillus*)와 RABC(Rotating Activated *Bacillus* Contactor) 공법은 *Bacillus*를 이용하여 유기물뿐만 아니라 질소와 인도 효율적으로 제거하는 공법이다. 그러나 현 단계에서 폐수처리 시설에 이용되고 있는 *Bacillus*의 유기물 제거에 대한 미생물학적인 특성을 과학적으로 입증하지 못하였다. 이에 본 연구에서는 활성슬러지에서 보고되는 균주 *Burkholderia cepacia*(KCTC 2966)를 대조균으로 하고 *Bacillus megaterium*(KCTC 3007), *Paenibacillus polymyxa*(KCTC 3627) 균주와 B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리한 *Bacillus*속 4개 균주 *Bacillus* sp.(A12, C21, F12, L1)를 선정하여 0.2% Nutrient Broth, 30°C에서 배양하면서 *Burkholderia*와 *Bacillus*의 유기물 제거능력을 비교하였다. 접종량에 따른 개체군 차이로 유기물 제거능력이 영향 받을 수 있지만, *Bacillus*의 유기물 제거능력이 *Burkholderia*보다 2~5배 뛰어남을 알 수 있었다. 또한, *Bacillus megaterium*과 *Bacillus* sp.(C21, F12, N12)의 영양세포와 내생포자의 유기물 제거능력의 차이를 알아본 결과 내생포자의 제거능력이 영양세포보다 더욱 뛰어남을 알 수 있었다.

주제어 : *Bacillus*, 내생포자, 발아, 유기물 제거

1. 서론

*Bacillus*는 세균 분류체계 중 Firmicute에 속하는 대표적인 속(genus)으로 그람양성이며, 내생포자(endospore)와 주모성편모를 갖는다. 양쪽 끝이 둥글거나 각진 막대기 모양의 간균(rod-shaped)으로 크기는 0.5~2.5 × 1.2~10 μm 정도이며, 종종 세포가 쌍을 이루거나 사슬모양을 형성하는 것으로 보고되었다.¹⁾ *Bacillus*는 유기물을 에너지원과 탄소원으로 하는 화학유기영양생균(chemoorganotroph)이며 대체로 catalase 양성을 나타낸다. *Bacillus*는 호기성균이나 통성혐기성인 종류(facultative anaerobes)도 있으며 열, pH, 염도에 대해 매

우 다양한 생리학적 특징을 가지고 있다.

*Bacillus*의 특성을 이용한 생물학적 분뇨처리공정에 대한 Murakami 등²⁾의 보고가 있었으며, 2002년 이후 국내 하·폐수처리장 방류수의 수질기준이 강화되면서, *Bacillus*와 폐수의 고도처리 기술에 대한 관심이 증대되었다. 이를 바탕으로 *Bacillus*를 이용하여 폐수의 고도처리를 담당하는 생물학적 공정에 관한 연구들이 진행되어 왔다.³⁾

*Bacillus*를 하·폐수처리에 활용하는 생물학적 처리공정은 악취문제가 쉽게 해결되고 유기물뿐만 아니라 질소, 인의 제거에 탁월한 효과까지 보이는 등 기존의 활성슬러지 처리 개념으로는 잘 이해가 되지 않는 특이한 처리 효과가 있다는 사실이 이미 일부에서 실증되고 있다.⁴⁾ *Bacillus*가 우점화 된 활성슬러지와 호기성소화공정의 결합 시스템에서 도축 폐수 내 유기물과 질소, 인의 제거효과가 우수했으며,⁵⁾ *Bacillus*가 우점화되면 매립지의 침출수와 같은 높은 유기물과 영양염

† Corresponding author
E-mail: donghun@chungbuk.ac.kr
Tel: 043-261-3261 Fax: 043-264-9600

류를 포함하는 하·폐수의 처리효과가 매우 높아진다고 하였다.⁶⁾ 또한 기존의 방법보다 슬러지 발생량이 줄어들고, 양호한 탈수효율을 얻을 수 있는 고도처리방법으로 알려져 있다. 현재까지 국내에서 보고된 *Bacillus*를 이용한 생물학적 폐수처리공법에는 B3(Bio Best *Bacillus*), RABC(Rotating Activated *Bacillus* Contactor) 공법 등이 있으며, Choi 등⁷⁾은 B3 공법이 적용된 축산폐수처리시스템의 유기물, 질소, 인 제거 효율이 뛰어남을 밝혔고, 김 등⁸⁾은 RABC에서 분리 동정한 *Bacillus*의 침강특성을 조사한 결과 *Bacillus*를 첨가한 슬러지가 일반 활성슬러지 보다 침강성이 개선되었으며 수중의 대장균 제거효율이 증가하는 것으로 보고하였다.

기존의 *Bacillus* 이용 공정들은 유기물 영양 고갈과 점감포기를 통해 *Bacillus*를 포자화하고 이를 반송함으로써 *Bacillus*를 우점시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 현재 폐수처리 시설에 이용되고 있는 *Bacillus*의 미생물학적인 특성을 과학적으로 입증하지 못한 수준에 머물고 있으며, 경험적으로 개발된 공정과 운전방법의 타당성이 검증되지 않은 상태에 있다.

이에, 본 연구에서는 내생포자 형성과 발아단계를 중요한 특징으로 갖는 *Bacillus*의 두 가지 생활사에 따른 유기물 및 질소, 인 처리 능력에 관하여 알아보고자 하였다. 즉 *Burkholderia cepacia*와 *Bacillus*의 유기물 제거능력을 알아보고, *Bacillus*의 영양세포와 내생포자의 제거능력을 비교하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 균주의 선정 및 확인

유기물 제거 실험을 위한 대조군 실험의 표준균주로 그람 음성균이며, 유기물 및 난분해성 오염물질의 분해로 널리 알려져 있는 *Burkholderia cepacia*(KCTC 2966)를 이용하였다.⁹⁾ *Bacillus* 균주로는 B3 system에서 보고되는 균주 중 *Bacillus* Group I에 속하는 *Paenibacillus polymyxa*(KCTC 3627) 균주와 Group II에 속하는 *Bacillus megaterium*(KCTC 3007), B3 공법의 분뇨처리장으로부터 직접 분리한 *Bacillus*속 5개 균주 *Bacillus* sp.(A12, C21, F12, L1, N12)를 선정하여 실험하였다. 분리 균주는 위상차 현미경(Nikon, Japan)으로 포자 확인 후 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석을 통해 *Bacillus* 균주임을 확인 하였다.

2.2. *Bacillus*의 포자화

포자를 수확하기 위해서 Nutrient Broth(Beef extract 3 g/L, Peptone 5 g/L, Difco) 30 mL을 이용하여 진탕배양기(150 rpm, 30°C)로 24시간 동안 1차 농화배양을 하고, 배양액을 Nutrient Broth 3 L에 접종하여 상온에서 growth curve가 stationary phase에 도달할 때까지 회분배양하였다. 이 배양액을 4°C, 6,500 rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 *Bacillus*의 균체를 모았다. 수확한 *Bacillus* 균체를 포자화 배지[Difco sporulation media: 0.8% Nutrient Broth, 13 mM KCl, 1 mM Ca(NO₃)₂, 1 mM MgSO₄, 0.01 mM MnCl₂, 1 μM FeSO₄] 200 mL에 접종하였으며, 포자생성 과정을 증진시킨다고 알

려진 SiO₂(최종농도 0.05 mM)을 포자화 배지에 첨가하였다.^{2,10)} 30°C에서 24시간 진탕배양한 후 85°C에서 15분 heat shock을 주고, 다시 30°C에서 24시간 진탕배양하여 영양분 부족과 열에 대한 stress로 포자화를 촉진시켰다.¹¹⁾ 또한, 다량의 포자를 빠른 시간 내에 획득하기 위해 Barbeau 등¹²⁾의 plate filtration method를 병행하였다.

원심 분리하여 배양액을 제거하고, 세포 및 포자 침전물에 0.85% NaCl 용액을 첨가하여 30°C에서 12시간 동안 진탕 배양하였다(starvation). 2% EDTA 용액에서 열처리와 냉각(60°C ↔ 30°C ↔ 4°C), 원심 분리를 통한 세척과정을 반복하면서 세포 밖으로 대량 분비되는 점액질의 세포외중합체(Exopolysaccharide)를 제거하고 포자만을 수확하였다.^{10,13)} 수확한 포자의 밀도는 nutrient agar plate에 도말 배양하여 계수하거나 포자염색¹⁴⁾ 시료를 현미경 검경하여 확인하였다.

2.3. 유기물 제거능 조사

유기물 제거능을 조사하기 위하여 MLSS, SCOD_{Cr}, TN, TP를 Standards Methods와¹⁵⁾ 수질오염공정시험방법에¹⁶⁾ 따라 처리, 분석하였다.

(1) *Burkholderia*와 *Bacillus*의 유기물 제거특성 비교

*Burkholderia*와 *Bacillus*를 0.2% Nutrient Broth(COD_{Cr} 2,050 mg/L, TN 240 mg/L, TP 14 mg/L) 500 mL에 접종한 후, 30°C에서 150 rpm의 속도로 교반 배양하였다. 2시간 간격으로 배양액 30 mL을 분취하여 growth curve(optical density, 600 nm)를 측정하고, GF/C 여과지(Watman, England)로 MLSS를 측정하고, 0.2 μm syringe filter(Sartorius, Germany)로 여과한 시료의 SCOD_{Cr}, TN, TP를 측정하였다(Qvis CS-200; C-mac, Korea). 또한, Nutrient agar plate에 도말 배양하여 세균 밀도를 계수하거나, AODC(Acridine Orange Direct Count) 방법으로¹⁷⁾ 시료 1개당 무작위로 10번(10 random fields) 이상 검경하여 균을 계수하였다.

(2) *Bacillus*의 영양세포와 내생포자의 유기물 제거특성 비교

Bacillus megaterium(KCTC 3007)과 B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 *Bacillus* sp.(C21, F12, N12)를 이용하여 영양세포 증식(replication)과 내생포자의 발아(germination) 과정에서 유기물 제거능력 차이를 알아보았다. 배양과 측정 방법은 *Burkholderia*와 *Bacillus*의 유기물 제거특성 비교실험과 동일하며, 포자 밀도는 포자염색 방법으로 계수하였다.

3. 결과

3.1. 분리 균주의 확인

B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 5 균주 모두 호기성 그람 양성 세균이었으며, 위상차 현미경 및 포자염색으로 내생포자를 확인할 수 있었다.

또한, 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석 및 Blast 프로그

Table 1. Specific Removal Rates of COD_{Cr} and Nutrients by *Burkholderia* and *Bacillus* strains.

| Strains | | <i>Burkholderia cepacia</i> (KCTC 2966) | <i>Paenibacillus polymyxa</i> (KCTC 3627) | <i>Bacillus megaterium</i> (KCTC 3007) | <i>Bacillus</i> sp. A12 | <i>Bacillus</i> sp. C21 | <i>Bacillus</i> sp. L1 |
|------------------------------------|--|--|--|---|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Cell Counts ^a (CFUs/mL) | | 3.26 × 10 ⁸ | 1.38 × 10 ⁷ | 1.17 × 10 ⁷ | 1.0 × 10 ⁷ | 8.8 × 10 ⁷ | 9.0 × 10 ⁷ |
| COD | Reduced COD ₄₈ ^b (mg/L) | 326 | 248 | 518 | 472 | 606 | 216 |
| | Removal rate ^c (mg/L/hr) | 54.33 | 41.33 | 86.33 | 78.67 | 101.00 | 36.00 |
| | Specific removal rate ^d (pg/cell/hr) | 0.17 | 0.30 | 7.38 | 7.80 | 1.15 | 0.40 |
| T-N | Reduced T-N (mg/L) | 56 | 16 | 52 | - | 88 | 96 |
| | Removal rate (mg/L/hr) | 9.33 | 2.67 | 8.67 | - | 14.67 | 16.00 |
| | Specific removal rate (pg/cell/hr) | 0.03 | 0.19 | 0.74 | - | 0.17 | 0.18 |
| T-P | Reduced T-P (mg/L) | 4.0 | 1.1 | 1.2 | 0.8 | 3.2 | 2.0 |
| | Removal rate (mg/L/hr) | 0.67 | 0.47 | 0.20 | 0.13 | 0.53 | 0.33 |
| | Specific removal rate (pg/cell/hr) | 0.002 | 0.034 | 0.017 | 0.013 | 0.006 | 0.004 |
| Reduced TN/COD (%) | | 17.18 | 6.45 | 10.04 | - | 14.52 | 44.44 |
| Reduced TP/COD (%) | | 1.23 | 1.13 | 0.23 | 0.17 | 0.53 | 0.93 |

-: not detected.

^a The cell count was obtained from the sample taken at 48 hr.

^b Reduced COD₄₈(mg/L) = SCOD₀(mg/L) - SCOD₄₈(mg/L)

SCOD₀ is the soluble COD_{Cr} value at 0 time.

SCOD₄₈ is the soluble COD_{Cr} value at 48 hours.

^c Removal rate(mg/L/hr) = Reduced COD₄₈(mg/L) / 48 hr.

^d Specific removal rate(pg/cell/hr) = Reduced COD₄₈(mg/L) / Cell count (CFUs/mL) / 48 hr.

램을 이용한 상동성 검색 결과 *Bacillus* sp. A12는 *Bacillus aquimaris*와 99%, *Bacillus* sp. C21은 *Bacillus cereus*와 98%, *Bacillus* sp. F12는 *Bacillus fusiformis*와 97%, *Bacillus* sp. L1은 *Bacillus licheniformis*와 99%, *Bacillus* sp. N12는 *Bacillus niacini*와 98%의 상동성을 보였다(결과 미제시).

3.2. *Burkholderia*와 *Bacillus*의 유기물 제거능력

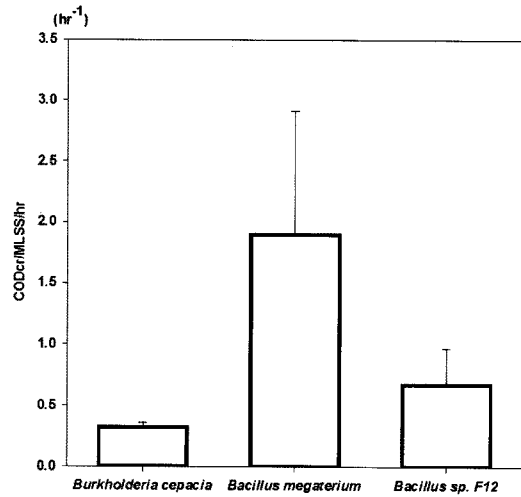
일반적인 폐수처리장에서 *Burkholderia*는 유기물 및 난분해성 오염물질의 분해로 널리 알려져 있기 때문에 *Burkholderia cepacia*를 대조군으로 하여 *Bacillus*의 유기물 제거특성을 조사하였다.⁹⁾ B3 공법에서 보고되는 균주 *Paenibacillus polymyxa*와 *Bacillus megaterium*의 표준균주, B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 *Bacillus* 균주 A12, C21, L1을 10⁴ cells/mL이 되도록 접종하고 48시간 뒤에 개체수와 제거된 SCOD_{Cr}, TN, TP를 측정된 결과, 시간당 유기물 제거율은 B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 *Bacillus* 균주 C21이 가장 높았으며, 모든 *Bacillus* 균주가 *Burkholderia cepacia* 보다 유기물 비제거속도(specific removal rate)가 높았다(Table 1). B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 *Bacillus* 균주인 A12는 가장 높은 비제거속도를 보였다. *Burkholderia*의 경우 *Bacillus* 균주와 같은 접종량(10⁴ CFUs/mL)에서 10⁸ CFUs/mL로 가장 많이 개체수가 증가하였고, 따라서 많은 유기물을 필요로 하였음에도 불구하고 제거된 COD_{Cr}가 *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp. A12와 *Bacillus* sp. C21보다 작았

으며, 유기물 비제거속도가 가장 낮았다. 질소, 인의 경우도 COD_{Cr}와 비슷한 결과를 얻었다(Table 1).

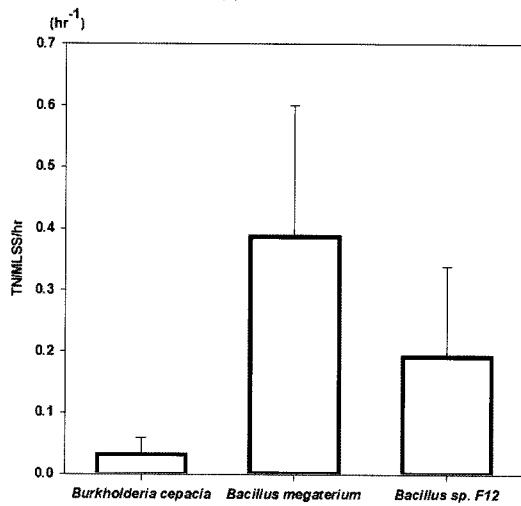
*Burkholderia cepacia*와 *Bacillus megaterium*, B3 공법의 분뇨처리장으로부터 분리된 균주 *Bacillus* sp. F12를 가지고 3회 반복 실험을 하였다. 대수기 성장단계의 영양세포를 접종(10⁶ cells/mL)한 후 9~12시간 동안 세균의 성장(O.D)과 MLSS, 유기물(SCOD_{Cr}) 및 질소(TN), 인(TP)의 제거 능력을 측정하였다. 한 시간 동안의 미생물량(MLSS) 당 유기물 제거율을 알아본 결과 *Bacillus*를 접종한 시료의 유기물 제거능력이 *Burkholderia*를 접종한 시료보다 뛰어남을 알 수 있었다(Fig. 1).

한편, 순수 배양 된 미생물의 상태가 flocc이 아닌 cell suspension일 가능성이 높아 SS 측정 시 GF/C filter의 큰 공극으로 인하여 균체량의 정확한 측정이 어렵기 때문에 개체 밀도에 따른 유기물 비제거속도를 알아보았다. *Burkholderia*와 *Bacillus*를 10⁵ cells/mL로 접종하고, 36시간 뒤 10⁸ cells/mL로 개체수가 비슷한 구간까지의 유기물 비제거속도를 알아본 결과, 역시 *Bacillus*를 접종한 시료의 유기물 제거능력이 *Burkholderia*를 접종한 시료보다 뛰어남을 알 수 있었다(Fig. 2).

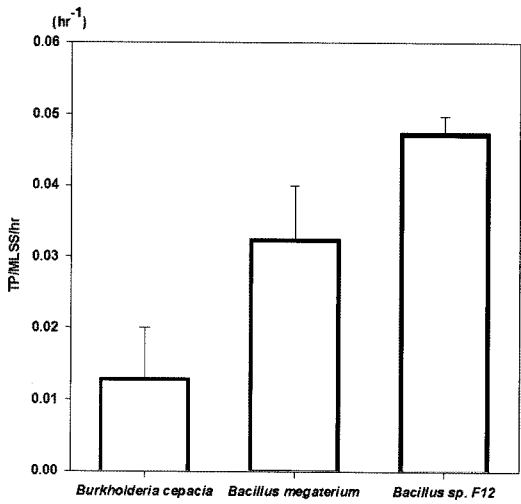
*Burkholderia*와 *Bacillus*의 유기물 제거능에 대한 반복 실험결과 평균적으로 *Bacillus*가 *Burkholderia*보다 2~5배 이상 미생물량(MLSS) 또는 개체 당 유기물, 질소, 인 제거능력이 뛰어남을 알 수 있었다.



(a) COD_{Cr}

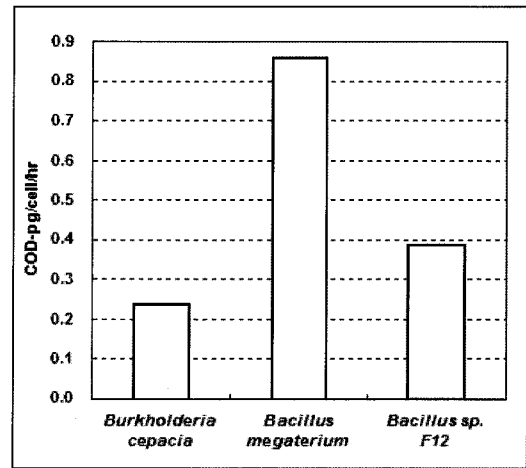


(b) TN

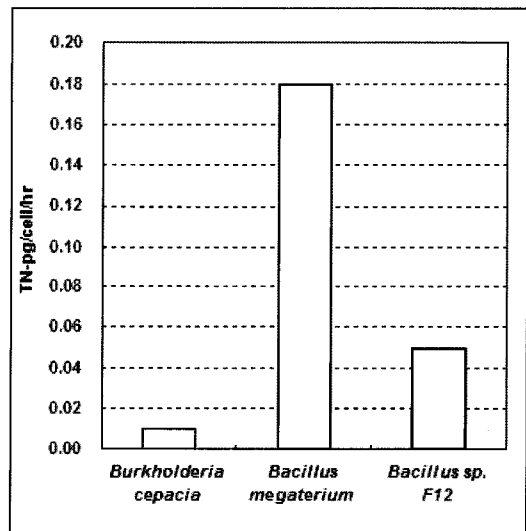


(c) TP

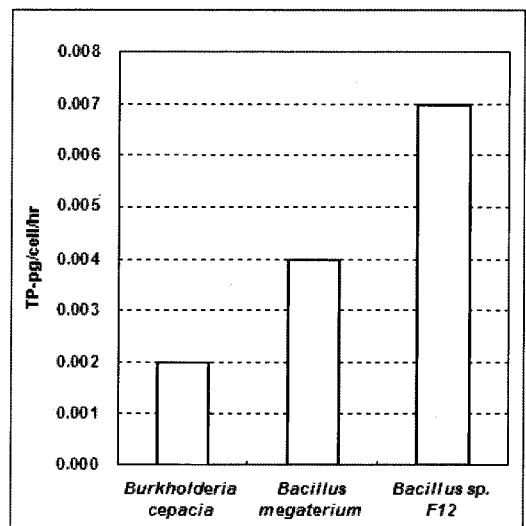
Fig. 1. COD_{Cr}, TN, and TP Removal Efficiency by *Burkholderia* and *Bacillus* strains. Removed COD_{Cr}, TN, and TP values of the filtered(0.2 μm) media were divided by the MLSS and the incubation time. The mean values and standard errors of three experiments are shown in the graph.



(a) COD_{Cr}

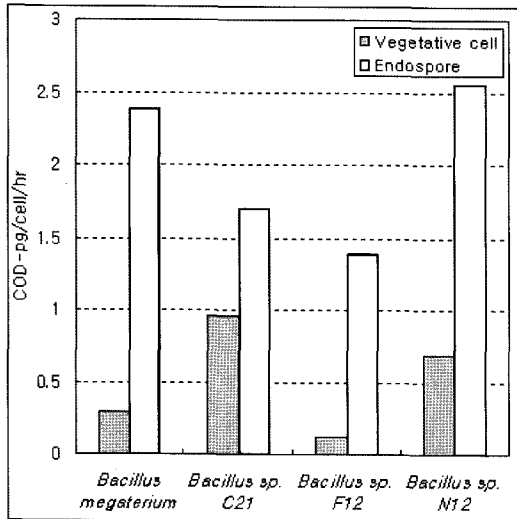


(b) TN

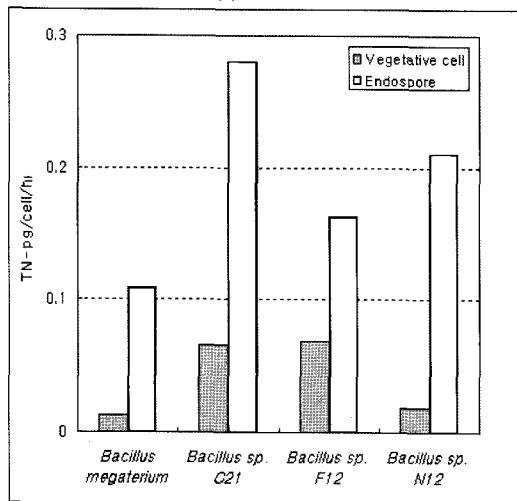


(c) TP

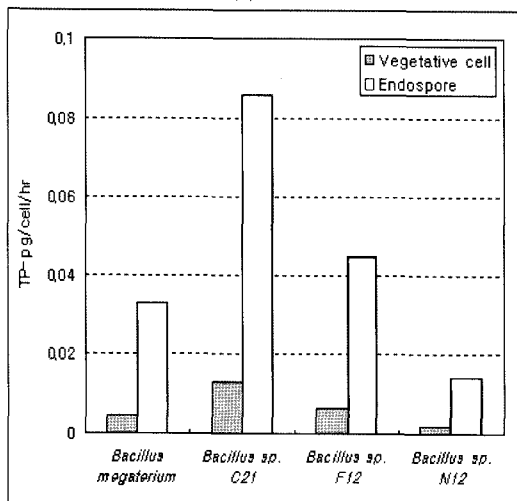
Fig. 2. Specific Removal Rates of COD_{Cr}, TN, and TP by *Burkholderia* and *Bacillus* strains. Removed COD_{Cr}, TN, and TP values of the filtered(0.2 μm) media were divided by the cell number(AODC) and the incubation time.



(a) COD_{Cr}



(b) TN



(c) TP

Fig. 3. Specific Removal Rates of COD_{Cr}, TN, and TP by vegetative cell and endospore of *Bacillus*. Removed COD_{Cr}, TN, and TP values of the filtered(0.2 μm) media were divided by the cell number and the incubation time.

3.3. Bacillus 영양세포와 내생포자의 유기물, 질소 및 인 제거능력

포자 발아율에 대한 예비실험결과 짧은 배양 시간에서는 10~20% 수준의 발아율이 확인되었으므로, *Bacillus megaterium*과 분뇨처리장에서 분리한 *Bacillus sp.* C21, F12, N12의 내생포자(10^7 spores/mL)와 영양세포(10^6 cells/mL)를 접종하고, 12시간 동안 세균의 성장(O.D)과 유기물(SCOD_{Cr}) 및 질소(TN), 인(TP)의 제거능력을 측정하였다. 내생포자를 접종한 경우 4시간부터 발아가 활발히 시작되었으며, 영양세포는 6시간에서 가장 빠른 성장 및 세포분열을 보였다(결과 미 제시). 내생포자의 발아와 영양세포의 빠른 성장이 이루어지는 접종 후 12시간까지의 유기물 비제거속도를 알아본 결과, *Bacillus* 4개 균주 모두에서 내생포자가 영양세포보다 1.8 배 이상의 제거능력을 보였다(Fig. 3(a)). 질소와 인의 경우에도, 내생포자를 접종한 시료에서 영양세포보다 모두 4배 이상 비제거속도가 뛰어난을 알 수 있었다(Fig. 3(b), (c)). MLSS로 계산한 미생물량 당 유기물 제거율은 내생포자의 경우 휴지기 상태의 포자와 세포외중합체가 다량 MLSS에 포함되어 제거율이 과소평가되었다.

4. 고찰

최근 Choi 등⁷⁾은 *Bacillus*를 우점화한 축산폐수처리시스템의 유기물, 질소, 인 제거 효율이 뛰어난을 밝혔고, Kim 등¹⁸⁾은 *Bacillus*를 우점화한 분뇨처리 공법에서 분리한 *Bacillus* 균주가 호기적 환경에서 질산화(nitrification)와 탈질화(denitrification)를 하며 이러한 특징은 *Bacillus*를 이용한 system에 이점이 될 수 있음을 시사하는 등 폐수처리에서 *Bacillus*의 오염물질 제거 능력에 대한 관심이 증대되고 있다.

본 연구에서 *Bacillus* 균주는 *Burkholderia*보다 유기물 제거능력과 질소, 인 제거능력이 뛰어난 뿐만 아니라, stationary phase에 도달하면서 EPS의 다량 생성과 침강성의 증가가 관찰되었으므로 침전지에서의 수확과정과 반송슬러지에서 내생포자의 안정성 등 폐수처리 시설에 적용할 경우의 장점을 확인할 수 있었다.

*Bacillus*의 내생포자는 영양세포보다 유기물 제거능력이 뛰어나으나 접종원의 환경 적응 차이로 인한 발아와 성장 시간의 차이, 개체 수 차이로 유기물 제거능력이 영향 받을 수 있다.^{10,19)} 그러므로 영양세포와 내생포자에게 모두 동일한 배지, 온도, 산소공급 환경에서 유기물 제거 정도를 측정함으로써 환경 조건과 개체 수의 영향에 대한 확인이 필요하다. 특히 내생포자의 발아율은 환경조건과 함께 접종량의 영향을 받는다는 보고가 있으므로¹⁹⁾ 향후 실험에서 충분한 발아 시간과 적절한 접종량의 고려가 필요할 것이다. 그러나 본 실험에서는 내생포자와 영양세포의 개체 수를 비슷하게 하여 동일한 배지에서 여러 종의 *Bacillus*를 통해 실험을 하였고, 모든 균주에서 내생포자가 영양세포보다 높은 제거율을 보였기 때문에 내생포자의 제거능력이 뛰어난 *Bacillus* 분류군 전체의 특징 중 하나라 볼 수 있을 것이다.

내생포자가 형성되는 불리한 환경조건 가운데 가장 중요한 것이 영양소 고갈이며, 포자는 내구체로서 열, 건조, 방사선, 화학약품 등에 대한 저항성이 매우 강한 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 내생포자는 두꺼운 펩티도글리칸 층을 뚫고 용출되며, 용균과정에서 방출되는 독성물질로 병원균 등의 세포벽에 타격을 줄 수 있어²¹⁾ 폐수처리 시설에서 위생적인 관점에서 유리할 것으로 생각되며, 발아(germination) 과정이 4시간 정도로 매우 빨리 일어나기 때문에 이용성도 우수한 것이다.

Bacillus 영양세포의 성장 단계와 내생포자 발아 단계의 유기물 제거 기작에 대해 자세히 알려진 바가 없으며, 실험 조건에 따라 상반된 결과가 도출될 가능성도 있으나, 본 연구 결과는 *Bacillus*가 우점된 공정의 현장 실무자들의 경험과 부합되는 결과로 향후 내생포자의 중요성과 다수 종으로 구성된 군집의 상호관계에 관한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다. 또한 폐수처리장에서 *Bacillus* 또는 포자발아를 통한 오염물질 제거의 가능성을 시사한다. 특히 내생포자형성 세균의 생활사와 유기물 분해능력을 이해하고 Bacillaceae과에 속하며 분류학적 위치가 다른 *Bacillus* 균주들과 폐수처리장에서 주요 군집으로 분리된 균주를 대상으로 현장 실용성에 대한 연구가 진행되면 이들 군집의 폐수처리장 생태계에서의 역할에 대한 이해가 증대되고 폐수처리시설의 효율 개선에 도움이 될 것이다.

5. 결론

B3와 RABC공법에 이용되고 있는 *Bacillus*의 유기물 제거에 대한 미생물학적 특성이 자세히 알려진 바 없다. 이에 본 연구에서는 *Burkholderia cepacia*와 6개의 *Bacillus* 균주(KCTC 3627, KCTC 3007, A12, C21, F12, L1)를 배양하면서 MLSS, SCOD_C, TN과 TP를 측정하여 *Bacillus*의 유기물 제거능력에 대해 알아보았다.

실험 결과, *Bacillus*가 *Burkholderia*보다 유기물 제거능력과 질소, 인 제거능력이 2-5배 이상 뛰어난 것을 알 수 있었다. 또한, 4개의 *Bacillus* 균주(KCTC 3007, C21, F12, N12) 모두에서 내생포자가 영양세포보다 유기물, 질소, 인 제거 능력이 1.8배 이상 우수했다.

본 연구 결과는 현장 실무자들의 경험과 부합되는 결과로 유기물 및 질소, 인 제거에 대한 *Bacillus*와 내생포자의 중요성을 알 수 있었다. 향후 폐수처리장에서 *Bacillus* 공법 혹은 포자발아 공법을 통한 오염물질 제거에 대한 가능성을 시사하며, 효율성이 입증되는 공정에서 *Bacillus* 균주의 분리, 배양 및 유기물 제거에 관한 지속적인 연구가 필요하다.

사 사

이 논문은 2005년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., and Williams, S. T.(eds.), *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9th Ed, Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 559~560(1994).
- Murakami, H., Doi, Y., Aoki, M., and Iriye, R., "Dominant growth of *Bacillus* spp. in the aerobic night soil digestion tanks and their biochemical characteristics," *J. Japan Soc. Water Env.*, **18**, 97~108(1995).
- 김용호, 조연제, 박성주, 신광수, 임수빈, 정진권, "망상형 회전식 바실러스 접촉장치를 이용한 하수의 고도처리공정에 관한 연구," *한국물환경학회지*, **20**(2), 190~195(2004).
- 최용수, 권용운, "B3 공법을 이용한 하·폐수의 고도처리," *한국물환경학회 · 대한상하수도학회 · 한국수도협회 공동추계학술발표회 논문집*, 스위스 그랜드호텔, 서울, pp. 235~238(2000).
- 조연제, 성기문, "바실러스균을 이용한 돈·도축폐수처리에 관한 연구," *한국물환경학회 · 대한상하수도학회 공동추계학술발표회*, 한국수자원공사, 대전, pp. 285~291(2000).
- 성기문, 조연제, 안영태, 이철희, 이창근, 류병순, "Seil-Bio공법을 이용한 매립장 침출수 처리," *한국폐기물학회 추계학술발표회*(1997).
- Choi, Y. S., Hong, S. W., Kim, S. J., and Chung, I. H., "Development of a biological process for livestock wastewater treatment using a technique for predominant outgrowth of *Bacillus* species," *Water Sci. Technol.*, **45**, 71~78(2002).
- 김용호, 조연제, 박성주, 신광수, 임수빈, 박현주, "회전식 부착 바실러스를 이용한 하수고도처리 공정에서의 총대장균군 제거 특성," *한국물환경학회지*, **21**(1), 73~78(2005).
- 김경민, 서영훈, 신주옥, 이해영, 정인실, 조은희, 하영미, *미생물학*, 제5판, 라이프사이언스, 서울, pp. 453~454(2003).
- Monteiro, S. M., Clemente, J. J., Henriques, A. O., Gomes, R. J., Carrondo, M. J., and Cunha, A. E., "A Procedure for High-Yield Spore Production by *Bacillus subtilis*," *Biotechnol. Prog.*, **21**, 1026~1031(2005).
- Dow, S. M., Barbeau, B., Gunten, U. V., Chandrakanth, M., Amy, G., and Hernandez, M., "The impact of selected water quality parameters on the inactivation of *Bacillus subtilis* spores by monochloramine and ozone," *Water Res.*, **40**, 373~382(2006).
- Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., and Prevost, M., "Examining the use of aerobic spore-forming bacteria to assess the efficiency of chlorination," *Water Res.*, **33**, 2941~2948(1999).

13. Liu, H. and Fang, H. H. P., "Extraction of extracellular polymeric substances(EPS) of sludge," *J. Biotechnol.*, **95**, 249~256(2002).
14. Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A., and Krieg, N. R., *Methods for General and Molecular Bacteriology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA, pp. 629~630(1994).
15. Andrew, D., Lenore, S., and Greengerg, C. A. E., *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 19th Ed, APHA, AWWA, WEF, Washington D.C., USA, part 4~5(1995).
16. 환경부, 수질오염 공정시험방법(1999).
17. Hobbie, J. E., Daley, R. J., and Jasper, S., "Use of Nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy," *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 1225~1228 (1977).
18. Kim, J. K., Park, K. J., Cho, K. S., Nam, S. W., Park, T. J., and Bajpai, R., "Aerobic nitrification-denitrification by Heterotropic *Bacillus* strains," *Bioresource Technology*, **96**, 1897~1906(2005).
19. Caipo, M. L., Diffy, S., Zhao, L., and Schafner, AD. W., "*Bacillus megaterium* spore germination is influenced by inoculum size," *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 879~884 (2002).
20. Starr, M. P., Stolp, H., Stuper, H. G., Balows, A., Schlegel, H. G.(eds.), *The prokaryotes*, Springer-Verlag, Berlin, Vol. I and II(1981).
21. Rehm, H. J., Reed, G., Puhler, A., and Stadler, P., *Biotechnology*, 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, Vol. 1(1993).