



Bacillus 미생물과 활성슬러지의 포자화에 따른 체외고분자물질 생성에 관한 연구
Production of Extracellular Polymeric Substances by Sporulation of *Bacillus* sp. and Activated Sludge

이상호*

Sang Ho Lee*

상명대학교 환경공학과

(2011년 1월 21일 접수 ; 2011년 2월 11일 수정 및 채택)

Abstract

The structural components of microorganism are quite related to the toxin and environmental conditions. The vegetative and dormant cells are quite affected by the physical and chemical environments to survive and they will be dormant when they are in the extreme environment. The mechanism to activate the microorganisms however, is not well defined yet in the area of activation state and sporulation state through the analysis of EPS. Other than that even the main mechanism of prior to acquisition of analysis values is not well understood. Therefore, what kind of specific environment to affect the activation and sporulation will be discussed through the analysis of the extracellular polymeric substances(EPS). EPS are a high molecular weight mixture of polymers presenting both outside of cells and interior of microbial aggregates. They are a major complex materials in microbial aggregation for sustaining them together in a three dimensional matrix. Three commonly used extraction methods were applied to this study their effectiveness and quantification in extracting EPS from several *Bacillus* microorganisms and activated sludge. Three extraction methods used for this study are regular centrifugation with formaldehyde (RCF), Steaming, and EDTA extraction. The results of EPS contents such as the quantitative proteins, carbohydrates and the ratio of protein versus carbohydrate from the several species with the several specific methods showed in this research. This study aims to get comparable results of the quantitative production of EPS and the effectiveness of sedimentation for *Bacillus* microorganisms and activated sludge from several wastewater treatment plans. The results revealed that the protein amount extracted was the highest by the Steaming method of three extraction methods before sporulation and the carbohydrate amount extracted was the highest by the RCA method of three extraction methods after sporulation. The higher amount of protein compared with carbohydrate from *Bacillus* microorganisms affected higher sedimentation efficiency, however it could not be found the relation between the EPS production and sedimentation efficiency for the activated sludge.

Key words : *Bacillus* sp., EPS, protein, carbohydrates, Extraction, Sedimentation

주제어 : *Bacillus* 미생물, 체외세포물질, 단백질, 탄수화물, 분리방법, 침전

* Corresponding author Tel:+82-, Fax:+82-, E-mail: leesh@smu.ac.kr(Lee, S. H.)

1. 서론

체외고분자물질(EPS)은 미생물 체내와 체외에 생성되는 물질이며 분자량이 대단히 높은 물질인데, 이들 물질들은 하수처리장의 각 반응조에서 흡착한 유기물질과 세포분해에 의하여 생성된다(Sheng, *et al.*, 2010). EPS 물질은 미생물의 물리화학적 성질에 따라 여러 가지 영향을 끼치는데, 특히 미생물 구조, 표면전하, 응집, 침전 및 탈수에 영향을 미친다(Wingender *et al.*, 1999). EPS 물질에 대한 연구는 생물학적 하수처리에 대한 이해와 각 반응조의 운전 요소의 최적 조건을 설정하는 중요하기 때문에 심도있는 연구가 진행되고 있다. EPS 물질은 단백질, 탄수화물 그리고 DNA로 구성되는데, 이 물질들의 정량적 평가는 추출방법에 따라 서로 다른 결과를 보이기 때문에 서로 비교하는 것이 매우 어렵다. 미생물의 EPS 분포는 초점공유 레이저 조영 현미경(CLSM; confocal laser scanning microscopy)을 이용하여 관찰할 수 있다(de Beer, D. *et al.*, 1996). 미생물 세포의 EPS 물질의 공간적 분포에 대해서 혐기성 미생물과 호기성 미생물에는 다소 차이가 있다. EPS 물질은 생물막 구조에 중요한 요소로 혐기성 미생물은 세포 바깥 층에 주로 분포하며 호기성 미생물인 활성슬러지는 세포 안쪽 층에 주로 분포한다. 이로 인하여 혐기성 미생물과 활성슬러지의 응집에 영향을 미치기 때문에 서로 다른 결과를 보일 수 있다(Sheng *et al.*, 2010). 하수뿐만 아니라 산업 폐수 중 고농도의 유기물질과 영양염류를 함유하는 폐수처리 공정에서 *Bacillus* 미생물을 이용하여 슬러지 침전성과 EPS의 성분 간의 상관관계에 대해서 연구가 진행되고 있다. 활성 슬러지보다 *Bacillus* 미생물의 EPS 물질에 의한 슬러지의 응집성과 침강성이 증가하는 결과를 근거로 EPS와 슬러지 침전성과의 직접적인 관련성이 있다고 밝혔다(김응호, 2004). 그러나 활성슬러지에 대해서는 SVI와 EPS는 일정한 관계를 보이지만 EPS는 슬러지 침전에 직접적인 영향을 미치지 않으며(Goodwin, 1985), EPS와 슬러지 침전성 사이에 상호관계가 존재하지 않는다고 주장하였다(Chao and Keinath, 1979). 최근 연구에서는 EPS의 양과 활성슬러지 침전성과의 관계가 별로 없지만 EPS의 성분에 따라 슬러지 침전성이 다르다고 보고되었다. 일부 미생물은 유기물을 분해하는 과정에서 각종의 유기산과 세포벽 표면에 점액물질을 분비한다. 미생물은 이 물질을 유해한 환경요인에 대한 방어기구로 이용하는데 경우에 따라 재흡수하는 경우도 있다. 한편 이 물질의 농도와 미생물 플러 형성능력의 정도 사이에는 양론적 관계가 존재한다. 즉, 점액물질의 양이 너무 적거나 많으면 플러 형성 능력은 크게 저하된다. 부하가 일정할 경우 HRT가 감소하면 즉 유입수

의 농도가 감소하면 pH는 상승하고 미생물에게 유해한 유기산이 회석되며 미생물의 점액물질 생산량은 감소한다. 반대로 HRT가 증가하면 유기산은 농축되어 pH는 하강하며 이때 미생물의 점액물질 생산량은 증가한다. 즉 점액물질은 HRT의 변화에 간접적 영향을 받는다. 이와 같이 HRT는 미생물의 점액물질 생산량을 자극하는 유기산의 농도를 좌우하여 슬러지의 침전성에 영향을 미친다고 보고하였다(Al-Halbouni *et al.*, 2008). 유기산은 탈질을 위한 유기탄소원으로 쓰이고, 슬러지 침강성에 관련된 EPS의 분비량에 영향을 주어 SVI, 유출수의 SS농도에 많은 영향을 미친다고 보고하였다(박영기외, 2006).

본 연구는 *Bacillus*를 이용하여 처리하는 공정과 활성슬러지를 이용하여 처리하는 공정의 미생물 EPS(Extracellur Polymeric Substances) 물질인 protein, carbohydrate의 생성량 비교, 생성된 EPS물질에 대한 protein/carbohydrate의 비율을 반응조별로 분석하고, *Bacillus* 미생물을 이용하는 공정과 활성슬러지 공정에서의 효율을 비교하기 위함이다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험방법

Bacillus 미생물의 적절한 배양 조건 및 방법을 찾기 위해 여러 문헌을 참고하였다. *Bacillus* 미생물은 액체배지 상태에서 항온교반을 통해 24시간동안 미생물을 배양하였고, 다량의 미생물을 얻기 위하여 농화배양을 3차까지 수행하였다. 본 실험에서는 U, J 슬러지 cake를 액체배지로 *Bacillus* 미생물을 배양하였으며 *Bacillus* 미생물의 우점화를 통하여 다량의 EPS 물질을 얻고 또한 미생물의 optical density 측정 시 흡광도에 영향을 미치는 슬러지 cake의 불순물을 없애기 위해 미생물을 농화 배양시켰다. *Bacillus* 미생물을 농화배양하기 위한 방법으로 미생물 슬러지 cake을 3g(습중량)/500mL(액체배지+무기염료)에 넣고 *Bacillus* 미생물의 우점화를 위해 80~85°C에서 30분 동안 stirring한 후 shaking incubator에서 다음 배양조건을 적용하여 1차 배양하였다. 1차 배양이 끝난 후 1차 배양액 50mL을 액체 배지에 넣고 1차 배양과 같은 조건에서 2차 농화배양 하였다. 계속해서 2차 농화배양액 50mL를 액체 배지 500mL에 넣고 같은 배양 조건으로 3차 농화배양을 실시하였다.

2.2 EPS 추출방법

EPS를 추출은 추출방법에 따라 물리적, 화학적 방법 그리고 두 가지를 병행한 방법으로 구분되며, 물리적인 방법

으로는 초음파나 원심분리, 양이온 교환수지 등이 많이 이용되고 있고, 화학적인 방법으로 EDTA나 formaldehyde 물질이 사용되었다. 많은 방법 중에 EDTA에 의한 추출방법이 가장 효과적인 것으로 알려졌다. 이는 EDTA를 사용했을 때 가장 많은 양의 carbohydrate량을 추출할 수 있으며 세포의 파괴현상을 가장 감소시킬 수 있기 때문인 것으로 밝혀졌다. 현재 많이 사용되고 있는 다섯 가지 추출방법은 Regular centrifugation, EDTA extraction, Ultracentrifugation, Steaming extraction, Regular centrifugation with formaldehyde이다. 본 연구에서는 다섯 가지 추출방법 중 RCF, Steaming, EDTA에 대한 실험방법(Zhang *et al.*, 1999)에 의하여 분석하여 결과를 도출하였다. 1단계는 미생물 세척단계로, 생물막 샘플(1g)과 water 25mL를 원심분리기 튜브에 넣는다. 튜브는 천천히 섞은 후 3,500rpm(6,000g)에서 10분 동안 원심분리를 한다. 원심분리 후 튜브에서 상정액을 따라 버린 후 slime material를 모은다. 2단계는 탈리단계로 세척 단계 후 생물막 pellet이 포함되어 있는 튜브에 water를 25mL 채운다. 내용물은 capsule-bound 물질을 회수하기 위해 vortex blender를 이용하여 가장 높은 속력에서 1분 동안 혼합시킨다. 3단계는 EPS 여과 및 포집단계로 각각의 추출 후에 원심분리하여 얻어진 상정액은 0.22 μ m cellulose acetate filter에 여과하고 다음 3가지 방법으로 분석하였다. ① Regular centrifugation with formaldehyde (RCF); stripping 과정에서 초순수 대신에 Formaldehyde 0.22%를 포함하고 있는 8.5% NaCl 25mL를 첨가하여 1g 시료에 사용되었다. 혼합된 시료 10mL은 30분 동안 12,000rpm으로 원심분리 하였다. ② Steaming extraction; 결합된 시료 10mL을 1 bar, 80°C 상태의 고압증기멸균기에 넣고 10분 동안 증기시킨다. 그 다음 10분 동안 8,000g로 원심분리하는 동안 온도를 15°C를 유지한다. 증기 처리법은 일반적인 고압증기상태(120°C, 16bar)에서 끓이거나 고압증기에 의한 세포 파괴 효과를 줄이기 위해 사용되어 진다. ③ EDTA extraction; 2% EDTA 10mL과 결합된 시료 10mL에 2% EDTA 10mL을 넣고 4°C에서 3시간 동안 가만히 둔다. 그 다음 4°C에서 20분 동안 14,000g로 원심분리를 시킨다.

2.3 EPS 분석방법

2.3.1 protein 분석

protein 함량 분석은 Warburg-Christian method를 이용하였다. 대부분의 순수한 단백질의 농도는 280nm에서 흡광도를 측정함으로써 신속히 결정할 수 있다. 그러나 핵산은 260nm에서 최대 흡수를 가지고 있지만 280nm에서

도 흡광도가 가장 크다. 따라서 이에 대한 적절한 보정계수를 이용하여 단백질을 정량한다. 미지의 시료를 각각 280nm, 260nm에서 흡광도를 측정한 다음 280nm에서 측정값을 A280, 260nm에서의 측정값을 A260 정하고 A280/A260의 비를 계산한 후 표에서 적절한 보정계수를 찾아 설정된 식에 따라 미지시료의 protein 농도를 계산한다.

2.3.2 carbohydrate 분석

carbohydrate 함유량을 분석하기 위하여 phenol-sulfate acid method를 이용한 흡광광도법을 활용하였다. 전체 carbohydrate 함량을 측정하여 정량하는 비색측정방법으로 시료의 당함량 측정에 널리 이용되고 있다. 분석순서는 다음과 같다. ① 1~10mg의 시료 적당량을 증류수 50mL에 가하여 교반하면서 약 30분간 끓인다. ② 유리 여과기로 여과한 후 더운물로 2~3회 씻은 후 여과액에 물을 추가하여 100mL이 되게 한다. ③ 시료용액 1mL를 시험관에 취해 페놀 용액 1mL를 가하여 잘 혼합한 뒤 진한 황산 5mL를 용액에 바로 가하여 발열과 함께 반응이 잘 일어나도록 한다. ④ 실온에서 30분간 방냉 후 분광광도계를 이용하여 470nm의 파장에서 흡광도를 측정한다.

3. 결과 및 고찰

3.1 시간에 따른 EPS 생성 실험

Bacillus 미생물의 시간에 따른 protein과 carbohydrate 측정결과 U시료의 protein은 초기에 carbohydrate보다 낮게 측정되었지만 11시간 이후부터는 높게 측정되었다. J시료의 protein 또한 U시료와 마찬가지로 초기에 carbohydrate보다 낮게 측정되었으나 13시간 후부터는 높게 측정되었다. carbohydrate 측정결과 U시료는 반응시간 3시간 후에 가장 높은 양을 나타내었고 3시간 이후부터는 점점 감소하는 경향을 나타내었다. J시료의 carbohydrate는 6시간에 가장 많은 양을 나타냈고 6시간 이후부터는 점점 감소하는 경향을 Fig. 1과 같이 나타냈다. U, J시료의 포자화 전·후의 EPS 구성물질 중 carbohydrate와 protein 측정결과 포자화 후의 분석값은 포자화 전의 분석값보다 낮게 측정되었고 측정 물질 중 protein이 많이 포함되어 있는 것으로 나타났다. 시간에 따른 protein과 carbohydrate 측정결과 U시료의 protein은 초기에 carbohydrate보다 낮게 측정되었지만 11시간 이후부터는 높게 측정되었다.

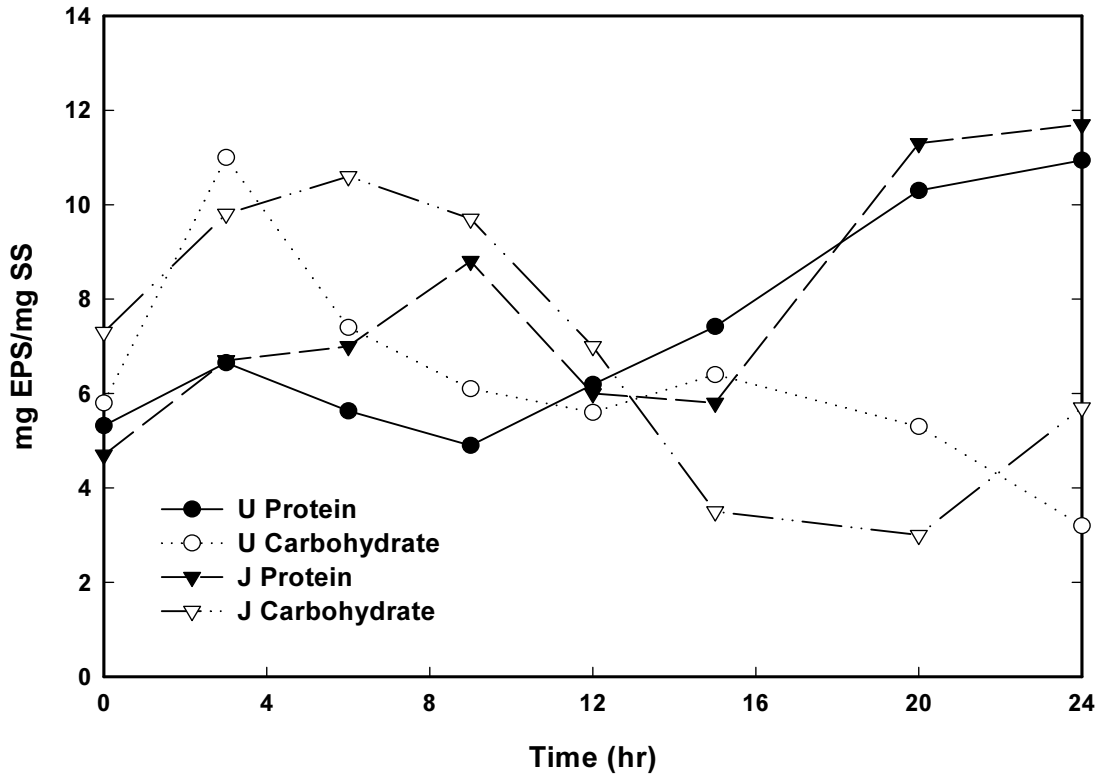


Fig. 1. The productive variation of protein and carbohydrate on the time basis.

3.2 세 가지 추출방법에 따른 EPS 추출물질량 비교
포자화 전·후 상태의 미생물의 EPS추출결과 구성 물질은 적용되는 추출방법에 따라 추출되는 양이 달라지는 것으로 나타났다. U분뇨처리장으로부터 입수한 *Bacillus* 미생물의 포자화 전·후에 protein, carbohydrate양을 분석하여 나타내면 Fig. 2와 같다. RCF법을 적용하였을 때 carbohydrate 물질이 다른 추출법에 비해 가장 많이 추출되었고 Steaming extraction 방법을 적용하였을 때 protein이 가장 많이 추출되는 것으로 나타났다. EPS의 구성물질은 포자화 전보다 포자화 후에 더 많은 양이 추출되는 것으로 나타났다. 포자화 전에는 protein은 Staming 방법에 의하여 가장 높게 분석되었으며, carbohydrate는 RCA 방법에 의하여 가장 높게 측정되었다. 포자화 후에는 protein은 Steaming 방법에 의하여 가장 높게 분석되었으며, carbohydrate는 RCA 방법에 의하여 가장 높게 분석되었다.

3.3 Bacillus 미생물을 이용하는 처리장의 EPS

U위생처리장은 B3 (Bio-Best-Bacillus)공법으로 *Bacillus* 미생물을 이용하여 분뇨를 처리하는 4개의 반응조로 구성되어 있다. 생물반응조는 점감포기법을 실시하여

Bacillus 미생물을 우점화함으로써 고농도로 배양된 *Bacillus* 미생물과 분뇨중의 대부분인 유기물, 질소, 인이 접촉하면서 대사에 의하여 섭취 및 산화분해가 일어나 제거되고 생물반응조 3단, 생물반응조 4단으로 이어지면서 용존산소 농도를 점점 감소하는 수준으로 유지하면서 *Bacillus* 미생물의 생물환경이 나빠지게 되어 포자를 형성한다. 특히 기존에 알려진 점감포기법을 변형하여 생물반응조 2단에서 1단보다 포기량을 늘려서 운영하는 이유는 침전조에서 포자를 형성한 *Bacillus*가 생물반응조 1단으로 반송이 되면 높은 DO와 유기물질 유입으로 발아를 시작하고, 2단에서 포기량을 늘려 *Bacillus* 미생물의 활성도를 극대화하게 된다. 그리고 생물반응조 3단과 4단에서 다시 낮아지는 DO농도로 인해 *Bacillus* 미생물이 생존하기에 불리한 환경조건이 되어 다시 포자를 형성하도록 운영하고 있다. 4개의 생물반응조와 생물반응조 1단으로 반송되는 슬러지를 이용하여 DO농도와 EPS물질을 추출하고 MLSS와 SV₃₀을 통하여 얻어진 결과값을 근거로 SVI를 산정한다. 또한 EPS물질 중 protein 함량과 SVI값을 비교하여 침전 효율을 판단한다. U분뇨처리장의 각 반응조별 EPS 측정결과와 protein/carbohydrate 비율을 Fig. 3에 나타내었다.

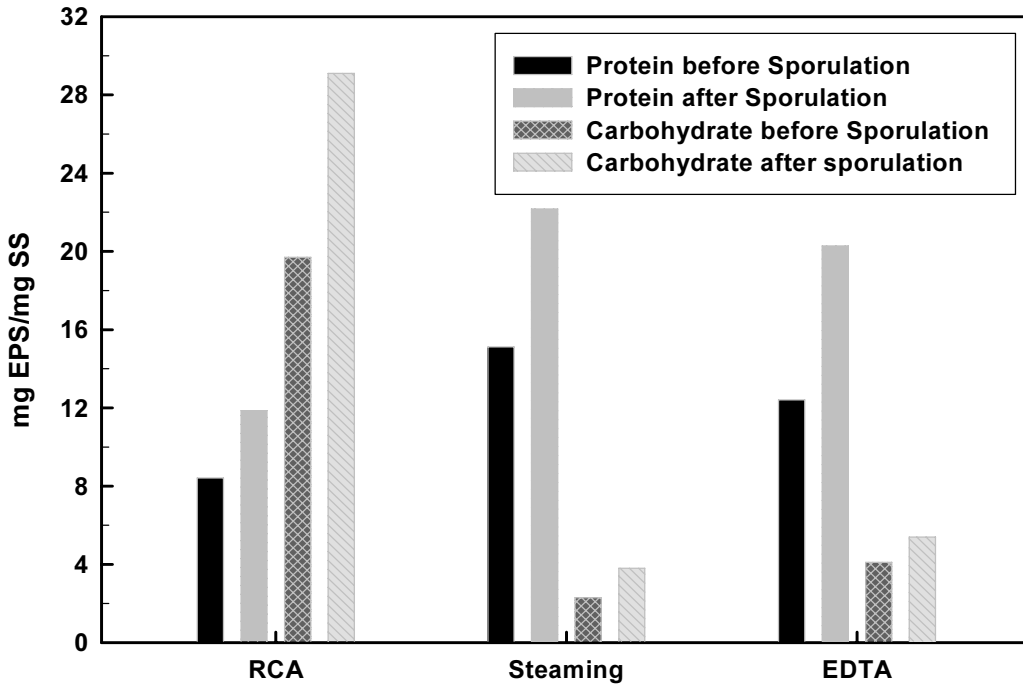


Fig. 2. Comparable results of EPS for *Bacillus* sp. before and after sporulation by three extraction methods.

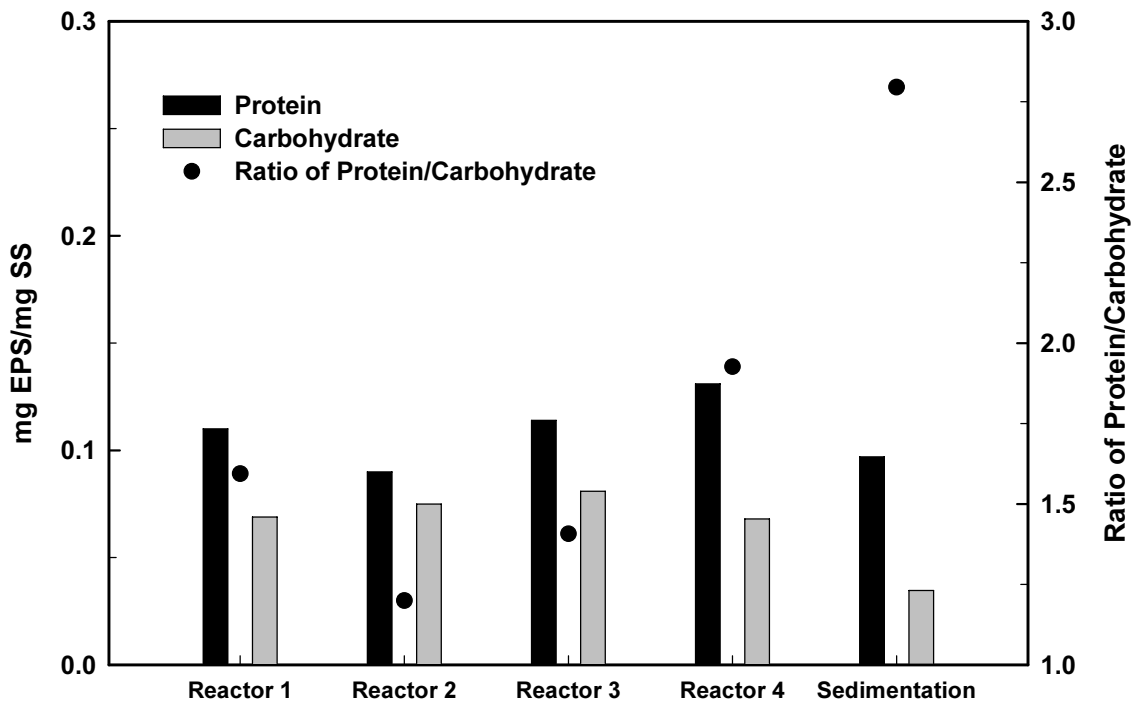


Fig. 3. EPS production and ratio of protein versus carbohydrate for *Bacillus* sp. in U city wastewater treatment plant.

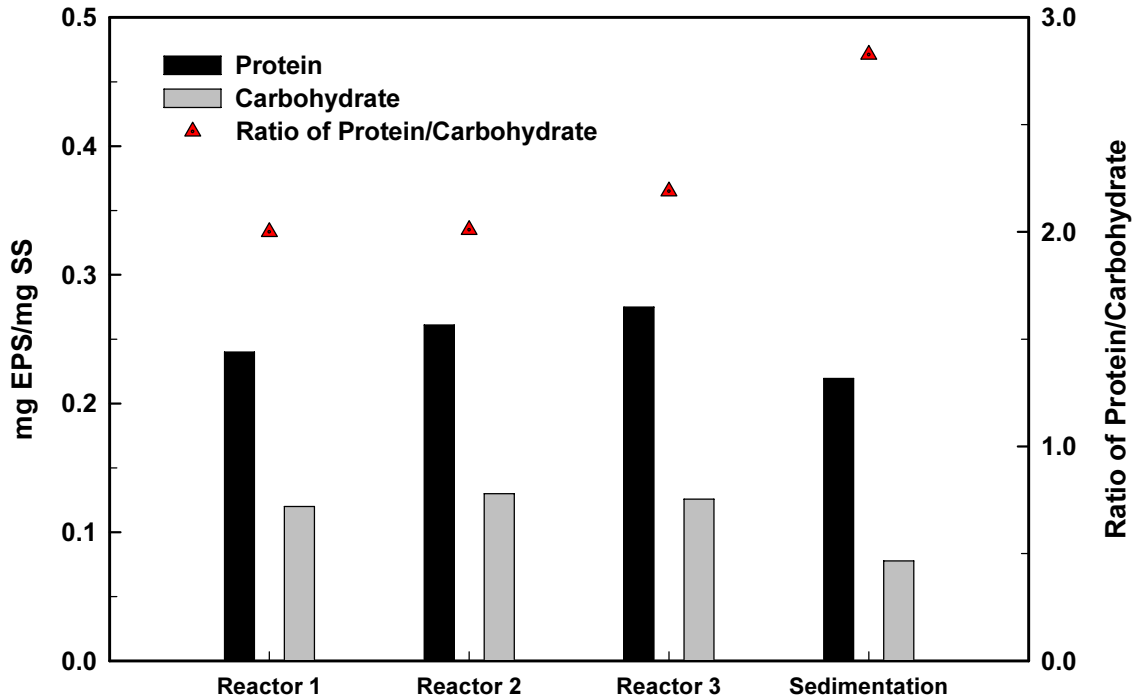


Fig. 4. EPS production and ratio of protein versus carbohydrate in K city wastewater treatment plant.

생물반응조 2단에서 protein/carbohydrate 비율이 가장 낮은 상태를 유지하다가 침전조에서는 최대값을 보이고 있다. protein/carbohydrate 비율이 최대가 되면서 *Bacillus* 미생물의 protein의 함량이 carbohydrate 보다 많아지기 때문에 침전효율이 높은 것을 판단된다.

EPS 물질 중 protein의 함량이 carbohydrate의 함량보다 높게 Fig. 3과 Fig. 4에서와 같이 나타났다. 각 반응조를 거치면서 EPS 추출물질 중 protein의 함량은 생물반응조 2단을 지나면서 점점 증가하는 것으로 나타났으며 carbohydrate는 거의 일정한 함량을 보이다가 침전조에서 감소하는 경향을 나타냈다. 그 이유는 침전조에서 포자를 형성한 *Bacillus* 미생물이 생물반응조 1단으로 반응이 되면 높은 DO농도와 유기물질 유입으로 인하여 발아를 시작하고 2단에서 포기량을 늘려 *Bacillus* 미생물의 활성도가 높아져서 미생물이 활동하기에 유리한 환경이 조성되면서 산소를 섭취하여 유기물과 영양염류 등을 제거하기 때문에 EPS 추출물질 중 protein의 함량이 감소한 것으로 판단된다. 생물반응조 3단과 4단에서 다시 포기량을 줄여 DO의 농도를 0.5mg/L 이하로 유지하면서 *Bacillus*가 활동하기에 불리한 환경이 조성되어 포자를 형성하면 EPS 물질 중 protein의 함량이 높아진 것으로 판단된다.

3.3.1 반응조별 DO농도와 SVI, EPS 추출물질과의 상관관계

U위생처리장 경우 기본적으로 점감포기법으로 운전하고 있지만 생물반응조 2단에서 포기량을 높여서 운전하고 있어 2단에서의 DO농도가 높을 것으로 예상을 하였으나 실제 측정값은 오히려 낮게 나타났다. 그 이유는 생물반응조 1단에서 발아된 *Bacillus*가 생물반응조 2단에서 포기량을 늘려 *Bacillus* 미생물의 활성도가 높아졌으며 활성도가 높아진 *Bacillus* 미생물이 산소를 섭취하여 유기물 등을 제거하므로 생물반응조 2단이 1단보다 포기량은 많지만 DO농도는 오히려 생물반응조 1단보다 낮게 측정된 것으로 판단된다. 반응조별 EPS 추출물질은 protein의 함량보다 carbohydrate의 함량이 높게 측정되었다. 그러나 carbohydrate의 경우 각 반응조를 거치면서 특별한 변화가 없지만 protein의 경우 생물반응조 2단에서부터 침전조까지 꾸준히 증가하는 것을 알 수 있으며 그에 따른 SVI도 90mL/g 이하로 양호한 수치를 보였다. EPS 추출물질과 DO의 관계를 살펴보면 일단 *Bacillus*를 활동하기에 불리한 조건의 미생물로 만들 수 있는 조건은 DO 농도이다. 반응조를 지나면서 DO의 농도가 낮아지며 2단에서 포기량을 높여 *Bacillus*의 활성을 좋게 하고 있다. 따라서 침전조에서 생물반응조 1단으로 반응되는 포자화된 *Bacillus* 미생물은

높은 DO로 인해 발아를 시작하며 2단에서 포기량을 높여 *Bacillus* 미생물의 활성도를 높여 유기물, 영양염류 등을 제거하고 3단과 4단에서 다시 낮아진 DO로 인해 *Bacillus* 미생물이 생존하기에 불리한 환경조건이 되므로 포자를 형성한다. DO의 농도가 낮아질수록 EPS 추출물질 중 protein의 생성에 영향을 미치며 protein의 함량이 증가할수록 침전도 양호한 것으로 판단된다.

3.3.2 반응조별 DO농도와 SVI, EPS 추출물질과의 상관관계

K처리장의 EPS추출물질을 비교한 결과 protein의 함량이 carbohydrate의 함량보다 높게 측정되었으며 반응조를 지나면서 protein의 함량은 꾸준히 증가하고 carbohydrate의 함량은 별다른 변화를 보이지 않고 있다. U위생처리장과는 달리 생물반응조를 3개로 운전 중에 있으며 침전조에서 포자를 형성하고 있던 *Bacillus*가 생물반응조 1단으로 반송되면 높은 DO농도와 유기물질 유입으로 발아하고 활성도가 높아지게 된다. 점감포기로 인해 생물반응조 2단과 3단을 지나면서 DO농도가 낮아지면 *Bacillus* 미생물이 생존하기에 불리한 환경조건이 조성되어 포자를 형성하게 된다. 반응조를 지날수록 DO의 농도는 낮아지며 *Bacillus* 미생물이 생존하기에 불리한 조건이 되어 포자화를 이루고 점액물질인 EPS를 내보내 protein/carbohydrate 비율이 침전조에서 상대적으로 높아짐에 따라 침전성이 향상된다고 판단된다. DO농도가 낮아질수록 protein의 함량은 계속 증가하고 carbohydrate의 함량은 특이한 변화를 보이지 않고 있으며, 반응조를 지나면서 DO농도가 낮아질수록 EPS 추출물질 중 protein의 함량이 점점 증가하며 그에 따른 SVI도 150mL/g 이하로 양호하게 측정이 되고 있다. 따라서 G하수처리장도 DO농도가 EPS 추출물질 중 protein의 함량에 영향을 미치는 것으로 판단되며, 그에 따른 protein의 함량이 침전에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

3.4 활성슬러지 미생물을 이용하는 처리장의 EPS

CNR공법으로 운전 중인 G하수처리장과 DNR공법으로 운전 중인 C하수처리장의 시료를 채취하여 미생물을 이용하는 공법과의 EPS 추출물질에 의한 침강성을 비교실험하였다. CNR공법은 생물반응조를 혐기조(Anaerobic Reactor), 무산소조(Anoxic Reactor), 호기조(Aerobic Reactor)로 분할하고 C/N비 조정을 위하여 유입수를 혐기조와 무산소조로 분할 공급하며, 호기조에 섬모상 담체를 충전하여 질산화 미생물을 고정시켜 유기물 및 질소, 인을 제거하는 하수 고도처리 기술이다. DNR공법은 표준활성슬러지 공법을 변형한 공법으로 슬러지 탈질조(Pre-Anoxic Tank), 혐기성조(Anaerobic Reactor), 무산소조(Anoxic Reactor), 호기성조(Aerobic Reactor)로 구성되며 질산성 질소를 제거하기 위한 내부반송과 침전지 슬러지 반송으로 구성되어 있다. 활성슬러지를 이용하여 하수를 처리하는 CNR 공법과 DNR 공법으로 운전중인 두 개의 하수처리장의 반응조별 EPS 생성물질을 추출하여 protein과 carbohydrate를 비교 분석하였다. G하수처리장의 반응조별 EPS 추출물질을 분석한 결과는 *Bacillus* 미생물을 이용하는 처리장과는 다른 결과를 나타냈다. G하수처리장의 반응조에서는 protein과 carbohydrate의 함량이 0.1 mg EPS/mg SS 이하로 낮게 나타났으며, 또한 혐기조에서 침전조까지 지나면서 protein/carbohydrate의 비도 거의 1.00을 유지하며 일정한 경향을 보이고 있다. SVI는 혐기조에서 침전조를 지나면서 점점 낮아지는 경향을 보이고 있으며 SVI는 130mg/L 정도를 보이고 있다. 본 실험의 G하수처리장의 반응조별 EPS 추출물질과 SVI 측정값으로 침강성 요인을 파악하는 것이었으나 *Bacillus*를 이용하는 공법에서와는 달리 일반활성슬러지 공법의 변형인 CNR 공법으로 운전 중인 G하수처리장에서는 EPS 추출물질로 인한 침강성은 관련성이 낮은 것으로 판단된다.

Table 1. EPS production and the ratio of protein versus carbohydrate for two wastewater treatment plants using activated sludge

Reactor	G wastewater treatment plant			C wastewater treatment plant		
	protein	carbohydrate	P/C ratio	protein	carbohydrate	P/C ratio
Anaerobic Reactor	0.0583	0.0582	1.00	0.0479	0.00158	30.31
Anoxic Reactor	0.0787	0.0787	1.00	0.0429	0.00207	20.68
Aerobic Reactor	0.0734	0.0737	0.99	0.0428	0.00260	16.46
Sedimentation Tank	0.0601	0.0609	0.98	0.0302	0.00173	17.45

활성슬러지를 이용하여 생활하수를 처리하는 2개의 대표적 하수처리장의 반응조별 활성슬러지의 단백질과 탄수화물을 비교한 것을 Table 1에 나타내었다. C하수처리장의 경우, 반응조별 soluble EPS 추출물질을 분석한 결과를 살펴보면 protein 함량은 G하수처리장의 양과 반응조별로 비슷한 경향을 보이고 있다. 그러나 carbohydrate 함량은 protein 함량에 비하여 상대적으로 상당히 낮은 값을 보이고 있다. protein/carbohydrate의 함량 비율은 G하수처리장의 분석 결과와 상당한 차이를 보이고 있다. 특히 주목할 사항은 G하수처리장의 경우 P/C의 비율이 1.00 인데 비하여 C하수처리장의 P/C 비율은 무려 17 배 이상을 상당한 차이를 보이고 있다. 따라서 활성슬러지를 이용하는 하수처리장의 EPS 추출물질과 침전 효율은 상관관계를 도출하기 매우 어려운 것은 사실이다. 물론 Bacillus 미생물을 이용하여 처리하는 다른 처리장의 경우와 비교하더라도 대단한 차이를 보이고 있다. 그리고 SVI는 150 mg/L 이상으로 침전은 양호하지 않은 것으로 나타났다. Bacillus 미생물을 이용하는 처리공정에서의 protein, carbohydrate 추출물질 분석결과와 CNR, DNR 공정에서의 추출물질 분석결과를 침전에 미치는 영향과의 관계를 분석하면 Bacillus 미생물을 이용하는 공정에서와 같이 protein, carbohydrate 함량이나 비율이 침전 효율에 큰 영향을 미치는 상관관계를 도출할 수 없었다. 다만, Bacillus 미생물을 사용하는 처리공정에서는 EPS 물질함량, 그 비율과 침전은 상당한 비례적 관련성을 보이고 있는 반면, 활성슬러지를 활용하는 처리공정에서의 결과를 분석하면 활성슬러지의 protein, carbohydrate 함량 또는 그 비율이 침전효과와 관련성을 찾기 어려움을 알 수 있다.

4. 결론

활성슬러지와 Bacillus 미생물의 EPS의 protein과 carbohydrate를 추출하기 위하여 세 가지 추출방법에 따라 실험한 결과를 종합하여 결론을 도출하면 다음과 같다.

1. U시료의 protein은 초기에 carbohydrate보다 낮게 측정되었지만 11시간 이후부터는 점차 높게 측정되었다. J시료의 protein 또한 U시료와 마찬가지로 초기에 carbohydrate보다 낮게 측정되었으나 13시간 후부터는 높게 측정되었다. carbohydrate 측정결과 U시료는 반응 시간 3시간 후에 가장 높은 양을 나타내었고 3시간 이후부터는 점점 감소하는 경향을 나타내었다. J시료의 carbohydrate는 6시간에 가장 많은 양을 나타냈고 6시간 이후부터는 점점 감소하는 결과를 얻었다.

2. 세 가지 추출방법에 따른 EPS 추출물질량을 비교하

면, EPS의 구성물질은 포자화 전보다 포자화 후에 더 많은 양이 추출되는 것으로 나타났다. 포자화 전 protein은 Staining 방법에 의하여 가장 높게 분석되었으며, carbohydrate는 RCA 방법에 의하여 가장 높게 측정되었다. 포자화 후에는 protein은 Steaming 방법에 의하여 가장 높게 분석되었으며, carbohydrate는 RCA 방법에 의하여 가장 높게 분석되었다.

3. U분뇨처리장의 생물반응조 2단에서 protein/carbohydrate 비율이 가장 낮은 상태를 유지하다가 침전조에서는 최대값을 보이고 있다. protein/carbohydrate 비율이 최대가 되면서 Bacillus 미생물의 protein의 함량이 carbohydrate 보다 많아지기 때문에 침전효율이 높은 것을 판단된다.

4. Bacillus 미생물을 이용하는 처리공정에서의 protein, carbohydrate 추출물질 분석결과와 CNR, DNR 공정에서의 활성슬러지로부터 추출한 물질 분석결과를 침전에 미치는 영향과의 관계를 분석하면 Bacillus 미생물을 이용하는 공정에서와 같이 protein, carbohydrate 함량이나 비율이 침전 효율에 큰 영향을 미치는 상관관계를 도출할 수 없었다.

감사의 글

본 연구는 상명대학교 교내연구비 지원사업으로 수행된 연구결과이므로 감사드립니다.

참고문헌

- Al-Halbouni, D., Traber, J., Lyko, S., Wintgens, T., Melin, T., Tacke, D., Janot, A., Dott, W., and Hollender, J., (2008), Correlation of EPS content in activated sludge at different sludge retention times with membrane fouling phenomena, *Water Research*, **42**, pp.1475-1488.
- Chao, A. C. and Keinath, T.M., (1979), Influence of process Loading Intensity on Sludge Clarification and Thickening Characteristics, *Water Res.* **13**(12), pp.1213-1220.
- Goodwin, J. A. S. and Forster, C. F., (1985), A further Examination into Composition of Activated Sludge Surface in relation to their Settlement Characteristics, *Water Res.* **19**(4), pp.527-533.
- de Beer D., O'Flaherty, V., Thaveersi, J., Lens, P., and Verstraete, W.(1996) Distribution of extracellular

- polysaccharides and floatation of anaerobic sludge, *Appl. Microbial Biotechnology*, **46**, pp.197-201.
- Sheng, G.P., Yu, H.Q., and Li, X.Y.(2010) Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review, *Biotechnology Advances*, **28**, pp.882-342.
- Wingender J., Neu, TR, Flemming, HC(1999) What are bacterial extracellular polymeric substances? In: Chapter 1, *Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and fuction*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, pp.1-18.
- Zhang, X., Bishop, P.L., and Kinkle, K. (1999), Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, 39(7), pp.211-218.
- 김응호 (2004), 망상형 회전식 바실러스 접촉장치를 이용한 하수의 고도처리공정에 관한 연구, 홍익대학교.
- 박영기, 김영일, 김슬기 (2006), 하·폐수 고도처리시 F/M비 변화에 따른 유기산 잔류농도가 슬러지 침강성에 미치는 영향, *대한환경공학회지* 28(1), pp.42-47.