

## 연속회분식 처리시스템에서 인공하수를 이용한 Polyhydroxyalkanoates (PHAs)의 생산

### Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from Sequencing Batch Reactor Using Synthetic Wastewater

손재협 · 차상협 · 박준모 · 박흥석<sup>†</sup>

Jae-hyup Son · Sang-Hyeop Cha · Jun-mo Park · Hung-suck Park<sup>†</sup>

울산대학교 건설환경공학부

Department of Civil and Environmental Engineering, University of Ulsan

(Received February 25, 2015; Revised April 17, 2015; Accepted June 30, 2015)

**Abstract :** The production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) using Sequencing Batch Reactor (SBR) was investigated. The experiments were performed in two fabricated SBRs (4 L) of different oxidation state. Synthetic wastewater was used as substrate, using C/N/P ratio of 42:10:1. SBR 1 and SBR 2 were operated in aerobic dynamic feeding (ADF) and anaerobic/oxic dynamic feeding (AODF) condition, respectively. ADF provide feast and famine in aerobic condition, while AODF in anaerobic/oxic condition. PHAs production was found high in AODF than AOF. Maximum PHAs content of 40.0% (w/w) of biomass were produced in AODF mode. Produced PHAs structural and thermal property were good.

**Key Words :** Sludge, Bioplastic, Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Production, Biodegradable Polymer, Biosynthesis

**요약 :** 인공폐수로 연속회분식 하수처리시스템에서 바이오플라스틱인 PHAs의 생산에 대하여 연구하였다. 실험은 하수처리장에서 식중슬러지를 채취하고, 실험실 내에서 제작된 인공하수를 이용하여 4 L 규모의 2조의 연속회분식반응기로 수행하였다. 인공하수의 영양조건(C/N/P)은 42:10:1로 운전되었으며, 연속회분식반응기는 호기상태에서 Feast/Famine 조건을 부여하는 ADF (aerobic dynamic feeding)의 SBR 1과 혐기/호기조건에서 Feast/Famine 조건을 부여하는 AODF (anaerobic/oxic dynamic feeding)의 SBR 2로 운전하였다. PHAs의 생산은 AODF가 ADF 보다 우수하였으며, AODF 에서 바이오매스 대비 최대 40.0% (w/w)로 높게 생산되었으며, 구조적 및 열적 물성도 우수한 것으로 나타났다.

**주제어 :** 슬러지, 바이오플라스틱, 폴리하이드록시알카노에이트 생산, 생분해 폴리머, 생합성

## 1. 서론

하수에는 다양한 용존 및 콜로이드성 유기성 성분과 영양 물질이 포함되어 있어 수중의 용존산소를 고갈시키거나 부영양화를 초래하므로 많은 에너지를 사용하여 이들 물질을 미생물을 이용하여 수중에서 제거하고 있다. 2013년 기준 우리나라에서 가동 중인 공공하수처리시설은 총 3,774개소로 공공하수처리시설을 통하여 19,877,291 m<sup>3</sup>/일의 하수가 처리되며, 이 중 물리학적 처리, 생물학적 처리, 고도처리에 의하여 각각 11,491 m<sup>3</sup>/일, 3,749,606 m<sup>3</sup>/일, 16,116,193 m<sup>3</sup>/일씩 처리되고 있다.<sup>1)</sup> 이러한 하수처리과정은 많은 에너지가 사용되고 있으며, 하수 처리후 발생하는 슬러지 처리문제에 있어 많은 비용이 사용되고 있다. 이에 최근 선진국을 중심으로 하수처리장의 저에너지화와 하수처리장으로부터 유용한 자원의 생산에 대한 관심이 높아지고 있다.<sup>2)</sup>

또한, 기후변화에 대응하기 위한 교토의정서의 발효에 따른 탄소세 도입으로 석유기반의 화학 산업이 지속발전 가능한 바이오기반의 화학 산업으로 이전되고 있다. 석유계 플라스틱에 의한 환경부하 및 이산화탄소 발생 등 단순한 환경오염의 문제를 넘어 경제적인 문제로 발전하여, 이에

대응하기 위한 기술연구를 통하여 기존 석유기반 고분자에서 바이오기반 고분자로 대체가 추진되고 있다.

특히, 바이오플라스틱은 석유화학계 난분해성 플라스틱 소재와는 다르게 일정한 조건에서의 수분, 자연계에 존재하는 박테리아, 조류, 곰팡이와 같은 미생물이나 분해효소 등의 작용으로 분해가 가능하며, 일반 플라스틱 제품과 동일하게 사용되고 사용 후 폐기물을 땅속에 매립할 수 있을 뿐만 아니라 연소 시에도 발생열량이 낮아 다이옥신 등의 유해물질이 방출되지 않는다.<sup>3)</sup> 그리고 이산화탄소의 배출량이 적어 대기환경 오염방지에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 지표면 및 해수의 오염을 예방하므로 지구환경 보호에 중요한 소재로 각광을 받고 있다.<sup>4)</sup> 바이오플라스틱은 탄소중립 (Carbon Neutral) 개념에 의해서 이산화탄소 발생량 저감에 중요한 역할을 하며, 이는 이산화탄소 발생량을 줄여야만 한다는 사회적 요구를 잘 반영한 고분자 소재이다.<sup>3,5)</sup>

바이오플라스틱의 종류에는 크게 다섯 가지 종류로 나눌 수 있는데, 그 첫 번째가 천연에서 만들어진 고분자, 두 번째로는 미생물을 이용하여 제조되는 고분자, 세 번째로, 바이오매스에서 제조되는 당을 이용하여 발효과정을 통해 제조되는 단량체를 중합하여 제조되는 고분자, 그리고 세 번

<sup>†</sup> Corresponding author E-mail: parkhs@ulsan.ac.kr Tel: 052-259-1050 Fax: 052-221-0152

째와 유사하나 바이오매스 기반 단량체와 석유기반 단량체를 중합하여 제조되는 고분자, 마지막으로 석유기반의 생분해성 고분자로 분류<sup>6)</sup>할 수 있으며, 이 중 본 연구에서 다루어지는 PHA (Polyhydroxyalkanoates)는 미생물에 의해 제조되는 고분자로 분류될 수 있다. PHAs는 자연계에 존재하는 수많은 미생물들이 탄소원은 풍부하지만 다른 성장인자가 부족할 경우 호기성 조건(Aerobic dynamic feeding, ADF)과 혐기/호기(Anaerobic oxic dynamic feeding, AODF) 조건에서 자신의 세포내부에 에너지 저장물질로 축적하는 고분자를 말한다. 바이오매스를 원료로 하여 만들어지는 PHAs는 최근 선진국을 중심으로 하수처리장에서 발생하는 활성슬러지를 이용하여 PHAs를 생산하는 연구가 많이 진행되고 있다.<sup>7-10)</sup> 이는 하수처리장을 이용한 PHAs의 생산은 하수처리 슬러지량을 줄임과 동시에 PHAs 생산이라는 경제적 이익을 동시에 얻을 수 있기 때문이다. 하지만, 국내에서는 의료용도를 목적으로 나노 기술과 PHAs를 접목시킨 바이오센서 칩 연구,<sup>11)</sup> 생산 비용 절감을 목적으로 식물성 오일을 이용한 PHAs 생산<sup>12)</sup> 등 바이오테크놀로지를 이용한 PHAs에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나 하수처리를 이용한 PHAs 생산에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 이러한 측면에서 볼 때, 하수처리장을 이용한 바이오플라스틱의 생산에 대한 기초연구는 하수 중의 유기물을 순환적으로 이용하고, 경제적으로 하수처리장을 운영하는 방안에 대한 연구를 시작한다는 점에서 매우 중요한 연구라 할 수 있다. 본 연구에서는 연속회분식 반응기를 이용하여 인공폐수로부터 영양조건과 운전조건에 따른 PHAs의 생산량과 물성을 분석하여, 하수처리슬러지를 활용한 바이오플라스틱의 생산가능성을 실험적으로 연구하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 대상시료

본 연구에서는 식중슬러지를 선정하기 위하여 울산의 굴화 및 언양 수질개선사업소와 용암 폐수처리장의 슬러지를

**Table 1.** PHA content of activated sludges from Gulhwa, Enyang, Youngam municipal and industrial wastewater treatment facilities (unit : %PHA)

	Gulhwa WTF	Enyang WTF	Youngam WTF
Sampling 1	2.9	1.3	0.7
Sampling 2	3.5	1.3	0.6
Sampling 3	3.0	1.5	0.7
Average	3.1	1.4	0.7

채취하여 분석하였다. 세 곳의 하·폐수처리장 모두 혐기/호기 조건으로 구성된 고도하수처리시설을 운영하고 있으며, MLSS농도는 약 3,000 mg/L로 큰 차이는 보이지 않았다. 특히, 굴화 및 언양 수질개선사업소와 용암 폐수처리장의 활성슬러지 내 %PHA는 Table 1과 같이 각각 3.1%, 1.4%, 0.7%로 나타나, PHA 함량이 가장 높은 굴화사업소의 슬러지를 식중슬러지로 사용하였다.

### 2.2. 실험장치 및 방법

#### 2.2.1. 시스템의 구성과 운영조건

본 연구에서는 Aerobic dynamic feeding regime (ADF)과 Anaerobic/oxic dynamic feeding regime (AODF)에 따른 PHAs의 생산 특성을 파악하기 위하여 실험실 규모 4 L 연속회분식반응기(SBR)를 운영조건 Fig. 1에 따라 운전하였다. 반응기 1은 ADF시스템으로 Fig. 1과 같이 호기조건으로 운전되었고 반응기 2는 AODF시스템으로 혐기조건 120분 호기조건 600분으로 운영되었다. C/N/P 비를 42:10:1로 구성하여 아세트이트를 탄소원으로 하는 인공하수와 미량원소<sup>13)</sup>를 Table 2와 같이 제조하여 사용하였다. 본 연구에 사용된 굴화수질개선사업소 기질의 경우 본 연구에서 활용되는 SBR공정과 유사한 MSBR (Membrane SBR)공법을 통해 하수를 처리하고 있어 미생물의 적응에 있어 유리한 조건이며, 식중 후 30일간 본 시료에 사용될 인공하수를 이용하여 적응시켰으며 실험 전 MLSS 농도를 3,000 mg/L로 조정하여 이용하였다. 운영조건에 따라 TOC (Shimadzu TOC-5000A), 암모니아(NH<sub>3</sub>-N), 인(PO<sub>4</sub>-P), DO, pH 항목을 분석하였다.

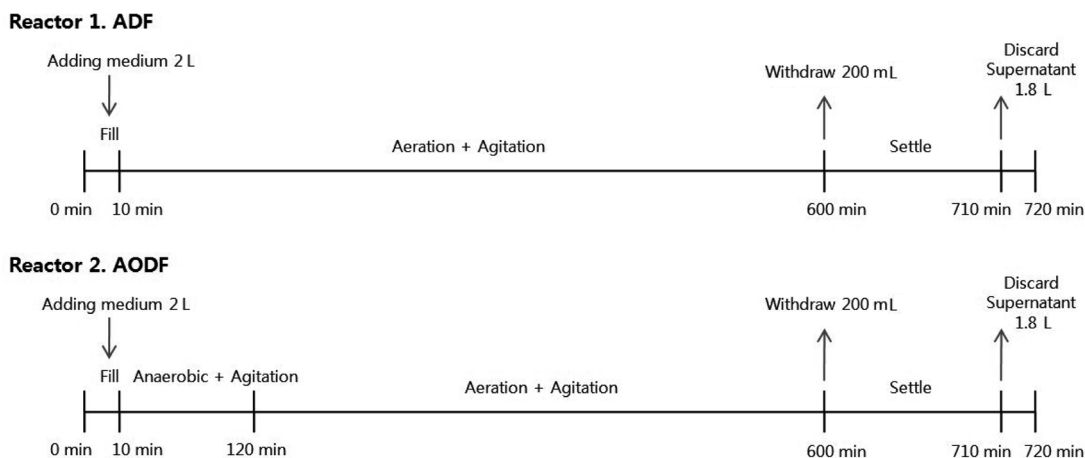


Fig. 1. Operation mode of ADF and AODF.

Table 2. Concentration of the substrate added in SBR reactors

Parameters	SBR 1		SBR 2	
	Phase	Conc.	Phase	Conc.
Sodium acetate (mM/L)	1	42,0	1	42,0
	2	80,0	2	80,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mM/L)	-	1,27	-	1,27
NH <sub>4</sub> Cl (mM/L)	-	11,43	-	11,43
EDTA (mM/L)	-	0,27	-	0,27
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (mM/L)	-	0,81	-	0,81
CaCl <sub>2</sub> (mM/L)	-	0,9	-	0,9
Trace elements (mL/L)	-	1,0	-	1,0
- FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O : 3,0 g/L	-	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O : 0,24 g/L		
- H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub> (g/L) : 0,3 g/L	-	- Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O : 0,12 g/L		
- CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O : 0,069 g/L	-	- ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O : 0,24 g/L		
- KI : 0,06 g/L	-	- CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O : 1,0 g/L		

2.2.2. PHAs 추출 및 분석

PHAs의 추출방법 및 분석은 Salmiati<sup>14)</sup>과 Shah<sup>15)</sup>에 따라 클로로포름을 이용하여 실시하였다. PHAs 분석을 위한 슬러지는 운전시간 120분 및 600분에 100 mL 채취하였으며, 원심분리기(3,000 rpm으로 5분간)를 통해 액상과 고상을 분리하여, 분리된 고상을 건조기를 통해 수분을 건조시켜 PHA 추출 시료로 이용하였다. 슬러지에 함유된 수분은 클로로포름을 이용한 PHA 추출시 공정을 지연시켜 추출효율을 낮게 만드는 경향이 있다.<sup>16)</sup> 본 연구에서는 슬러지 건조시 오븐 건조를 하여 수분을 제거하였으나 추출 지연에 의한 효율을 보정하기 위하여 동일한 시료로 PHA 추출을 2회 반복하여 회수하였다.

동근 플라스크에 건조시킨 슬러지 1 g과 클로로포름 100 mL를 넣은 후, 플라스크에 증류관을 연결하여 60°C에서 3 시간동안 100 rpm으로 교반시키면서 반응을 시켰다. 반응이 끝난 후 상온에서 냉각시키고 플라스크의 반응물을 필터페이퍼(Diameter 47 mm, 100 Circles, CAT No. 1822-047)로 걸러 고상과 액상으로 분리시켰다. 고체는 클로로포름과 함께 다시 플라스크에 넣어 60°C에서 3시간 동안 100 rpm으로 교반시키면서 반응시켰으며, 이를 두 번 반복하였다. 모아진 액상 반응물이 담긴 플라스크는 진공회전 농축기(Rotary evaporator)에 연결하고 항온수조 온도를 40°C, 냉각수 온도를 8°C, 교반속도를 10 rpm으로 유지하여 액상 반응물이 약 10 mL 정도 남을 때까지 농축하여 PHAs 물질을 추출하였으며, 추출과정에서 발생하는 증발되는 클로로포름은 본 연구에서는 환기설비를 통해 외부로 배출하였다. 추출한 PHAs 물질에 포함된 잔여 클로로포름을 제거하기 위하여 농축된 액상 반응물을 50 mL 비커에 담고 건조기에서 100°C로 30분간 건조시켰다. 위의 반응을 거쳐 pure PHAs를 회수하였다.

2.2.3. PHAs 함량분석

건조된 샘플을 약 10-20 mg되도록 무게를 달아 캡이 있는 유리튜브에 담은 후 건조된 샘플이 담긴 유리튜브에 propanol + HCl (8:2, HCl 20% v/v) solution 2 mL, 1,2-

dichloroethane (DCE) 2 mL, Internal standard solution (benzoic acid 2 g : propanol 50 mL) 0.1 mL를 넣었다. 캡을 닫고 반응이 잘 되도록 흔들어준 다음 103°C에서 3시간 반응시켰으며, 반응 후 냉각하여 증류수를 넣어 층 분리를 실시 후 바닥층만 분취하여 필터로 거른 후 나온 샘플을 이용하였다.<sup>17-19)</sup>

준비된 샘플의 GC분석은 Gas Chromatography (Donam system inc, DS 6200 model)를 사용하였으며, GC column은 길이 30 m, 직경 0.25 mm, film 0.25 μm의 DB-WAX capillary columns (J&W Scientific Co., USA)를 사용하였다. 분석 초기온도는 oven: 100°C, detector: 250°C, inject: 250°C로 100°C부터 220°C까지 10°C/min으로 증가하여 12분 동안 진행하였다. GC 검출기는 FID (Flame Ionization Detector)를 사용하였으며 운반가스로 Helium을 이용하였고, 보조가스로 혼합가스와 수소를 사용하였다. 정량적 평가는 PHAs의 peak 면적에 의한 결과를 농도로 활용하였으며 표준물질인 Sigma Aldrich 사의 Poly (3-hydroxybutyric acid-co-3 hydroxyvaleric acid)를 검량선법을 이용하여 검량선을 작성 후 전환계수를 산정하였다.

2.2.4. PHAs 물성분석

추출된 PHAs의 물성은 분자구조와 조성을 파악하기 위하여 FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy, Scinco inc, Nicolet 6700 model) 분석을 하였고, 분자량은 GPC (Gel permeation chromatography, Waters inc, Alliance model)로 분석하였다. 표준물질로 Sigma Aldrich 사의 Poly (3-hydroxybutyric acid-co-3 hydroxyvaleric acid)를 이용하였다. 그리고 결정구조와 역학적 특성을 파악하기 위하여 XRD (X-ray Diffractometer, Rigaku inc, D/MAX 2500-V/PC model) 분석을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 운영조건 따른 처리효율

ADF와 AODF 운영조건에 따른 유기물과 질소, 인의 제거 효율은 Table 3에 나타내었다. 표에서와 AODF가 ADF보다 호기시간이 짧음에도 불구하고, 유기물과 질소의 처리 효율은 유기물 91.7~94.3%, 암모니아 62.2~68.2%, 인 90.3~94.8% 내외로 비슷하나, 전체적으로 AODF의 처리효율이 높은 것으로 확인되었다.

Table 3. Removal efficiencies of SBR reactors

Parameter	TOC		NH <sub>3</sub> -N		PO <sub>4</sub>	
	0	540	0	540	0	540
SBR1 Concentration (mg/L)	990,6	82,5	151	48,0	54	5,3
(ADF) Removal efficiency (%)	91,7%		68,2%		90,3%	
SBR2 Concentration	990,6	56,2	151	57,0	54	2,8
(AODF) Removal efficiency (%)	94,3%		62,3%		94,8%	

### 3.2. 영양조건에 따른 내부 물질 거동

#### 3.2.1. 유기물, 질소 및 인의 거동

한 주기 동안 유기물, 질소 및 인의 거동은 Fig. 2와 3에 나타나 있다. ADF에서 Fig. 2와 같이 pH는 비교적 일정한 수준으로 유지하였으나, DO는 포기가 시작된 시점부터 증가하여 100분 이후 일정한 수준으로 안정화 되었다. 유기물(TOC)의 경우 초기 급감하고 이후 서서히 감소하였다. 질소(NH<sub>3</sub>-N)의 농도는 서서히 감소하였으나, 인(PO<sub>4</sub>)의 농도는 초기농도를 유지하다 감소하는 경향을 보여주고 있다. 이는 본 연구에서 ADF를 휴지기 후에 포기를 함으로써 완전한 호기 상태가 유지되지 못한 상태에서 유기물이 주입되어 산소가 부족한 초기에 주입된 유기물을 내부로 축적하는 과정에서 미미하게 인의 방출 메커니즘이 작동되었기 때문으로 판단된다.

반면 AODF의 경우 pH는 일정한 수준으로 유지하였으며, 혐기조건에서 0.1보다 낮은 수준의 DO를 유지하면서 포기가 시작되기 전까지 인의 농도가 지속적으로 증가하고 질소 농도는 일정하게 유지되었다. 그러나 포기가 시작된 이후 DO농도의 증가, 인과 질소의 농도가 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 전형적으로 혐기성상태에서 유기물을 흡수하면서 인 방출하며, 호기성 상태에서 인을 흡수하는 인 제거 미생물의 처리 메커니즘과 일치하고 있다. 이는 ADF나 AODF에서 연속적으로 feast/famine 조건을 부여하면 feast에서 세포내 PHAs를 축적하고, famine 조건에서는 이를 이용할 수 있는 메커니즘<sup>11)</sup>을 작동하는 PHA 축적능을 가진 미생물군에 의하여 유기물과 영양물질을 처리하고 있음을 실험적으로 보여주는 것이다.

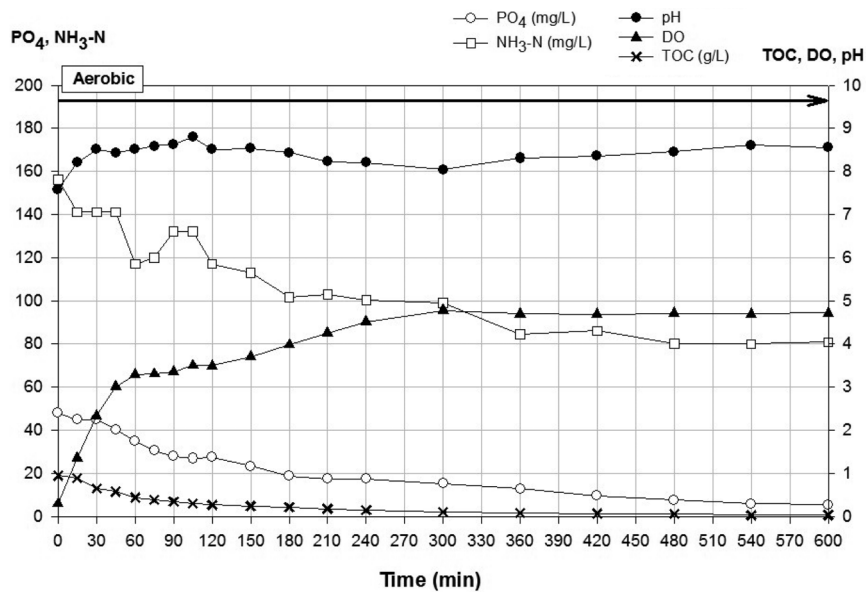


Fig. 2. Chronological concentration of TOC, PO<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>-N, DO, PH for SBR 1 at CNP ratio = 42:10:1.

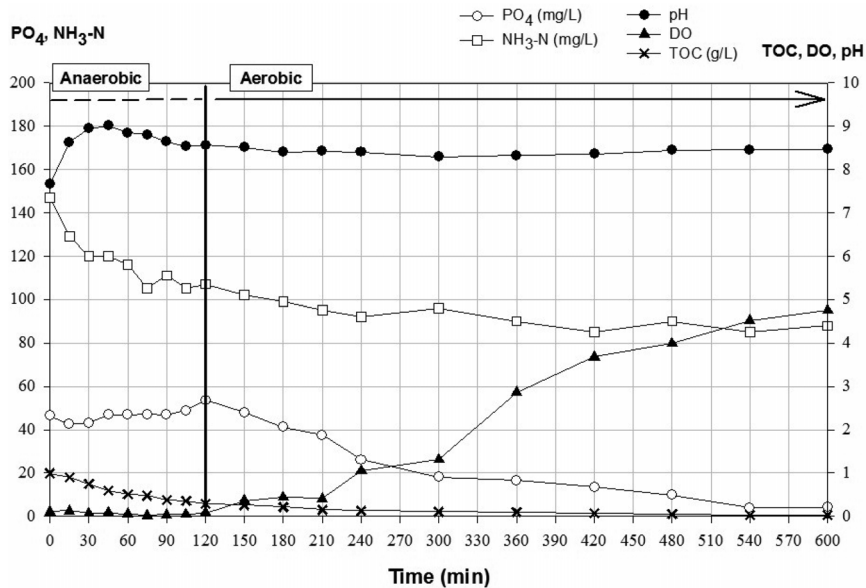


Fig. 3. Chronological concentration of TOC, PO<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>-N, DO, PH for SBR 2 at CNP ratio = 42:10:1.

3.2.2. PHAs의 함량의 거동

운영조건에 따른 미생물 체내의 PHAs의 함량을 Table 4에 나타내었다. Table 4를 보면 PHAs의 함량은 반응시간에 따라 영향을 받는 것으로 확인할 수 있다. 반응후 110 분후 ADF의 슬러지내 PHA 함량은 13.8~21.8(평균 17.6%)이었으며, AODF의 경우 22.1~40.2(평균 29.2)%로 나타났다. 모든 조건이 끝난 590 분후의 슬러지 내 PHA의 함량은 ADF와 AODF 각각 2.2~13.4(평균 7.2)%, 3.3~21.7(평균 12.6)%로 나타났다. AODF의 경우 혐기공정이 끝나는 시점인 110분에 PHA함량의 최대치는 40.2%이었으나, 호기공정이 진행되고 종료되는 시점인 590분에 최소치는 3.3%로 크게 감소하는 것으로 나타났다. 이는 ADF 및 AODF 시스템에서 유기물 농도가 높은 초기에 유기물을 세포 내에 저장하고, 유기물이 부족한 시기에 저장된 유기물을 활용하는 미생물 바이오플라스틱 생산 메커니즘을 작동하고 있음을 보여주는 것이다. 본 연구결과는 Table 5와 같이 기존의 활성슬러지를 이용한 PHA 생산연구에서 바이오매스의 30.0%,<sup>7)</sup> 62.0%,<sup>8)</sup> 48.0%,<sup>9)</sup> 56.5%,<sup>10)</sup> 58.3%<sup>20)</sup>의 얻은 결과들과 비교할 때, 차이가 나는데 이는 사용 유기물의 종류, 농도 그리고 운전 조건과 측정시간이 다르기 때문으로 판단된다.

Fig. 4에는 시간에 따른 PHA 함량변화를 나타내었다. Table 4와 같이 SBR2에서 혐기공정이 진행되는 동안 PHAs의 농도가 높아지고, 호기공정이 시작된 이후 감소하는 것으로 나타났으며, SBR1은 포기가 시작됨에 따라 서서히 감

Table 4. PHA production efficiencies of SBR reactors

Parameter	Average		Max		Min	
Time (min)	110	590	110	590	110	590
SBR1 (ADF) PHA(%)	17,6	7,2	21,3	13,4	13,8	2,2
SBR2 (AODF) PHA(%)	29,2	12,6	40,2	21,7	22,1	3,3

\* Time phase

- SBR 1 : 110 mins aeration state, 590 mins aeration finish state

- SBR 2 : 110 mins anaerobic finish state, 590 mins aeration finish state

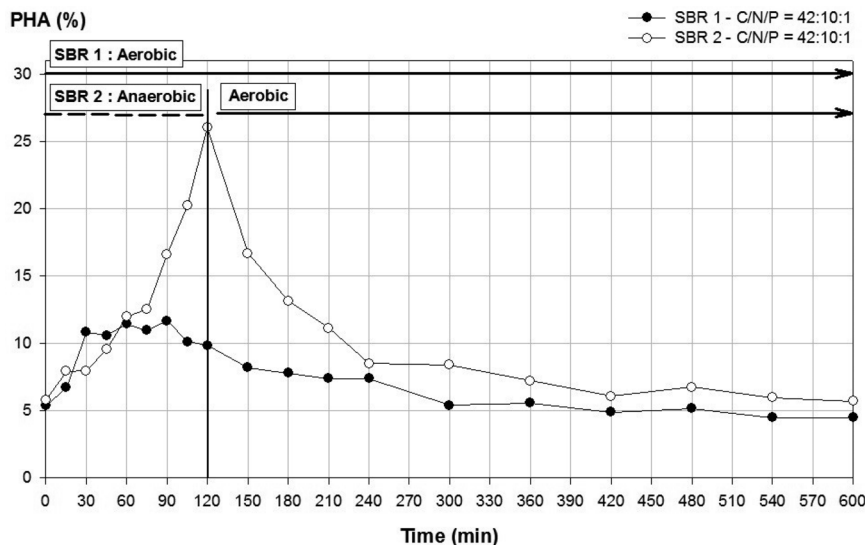


Fig. 4. Chronological content of PHAs for sequential batch reactors over time range.

Table 5. PHA production efficiency reported in other articles

Substrate	Process	PHA type	PHA (%)	Reference
Acetate	SBR (feed-anaerobic-aerobic -settling)	PHB	30% MLSS	7
Acetate	4 L continuous flow activated sludge system	PHB, PHV	48% TSS	9
Fermentative VFAs	ADF* process,	PHB, PHV	56,5% TSS	10
Glucose medium	batch culture	PHB	58,3% MLSS	20

\*ADF = aerobic dynamic feeding

소하는 것으로 나타났다.

한편, Fig. 5에는 회분식 실험으로 A/O비에 따른 PHA % 함량변화를 나타냈다. 조건은 C/N/P비 81:10:1의 조건으로, A/O비는 각각 0.25, 0.43 으로 진행되었다. 혐기공정이 시작하는 시점으로부터 점차적으로 PHA 함량이 증가되어 A/O비 0.25조건 반응기의 혐기공정이 종료되는 시점인 120분 지점의 PHA 함량은 29.0%, A/O비 0.43조건 반응기의 혐기공정이 종료되는 시점인 180분 지점의 PHA 함량은 32.0%로 나타났으며 포기가 시작됨에 따라 PHA 함량이 감소하는 것으로 확인되었다. 그러나 Dongbo Wang,<sup>25)</sup> 이우형<sup>26)</sup>은 A/O가 0.6, 0.66의 조건에서 PHA 48.3%, 51.0%로 보고하고 있어 PHA생산 최적조건에 대해서는 기질조건 등을 고려한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

인체리 미생물 중 탄소원의 저장 능력을 가진 미생물은 PAO (Polyphosphate accumulation organisms)와 GAO (glycogen-accumulating organisms)의 2종류가 있으며, 이러한 미생물은 영양조건이나 환경조건이 지속적으로 변동할 경우, 생존을 위하여 PHA를 합성하는 것<sup>13,21)</sup>으로 알려지고 있다. 그러나 본 연구에서 ADOF 시스템의 경우 혐기공정에서의

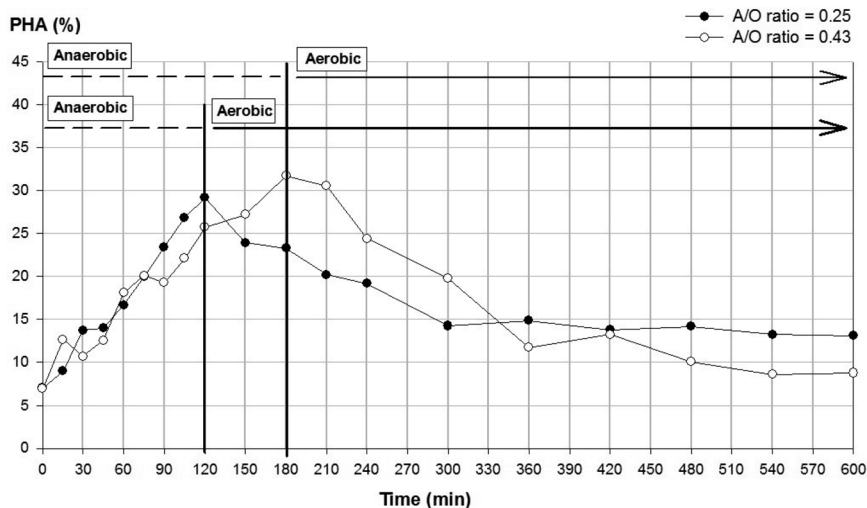


Fig. 5. Chronological content of PHAs for different Anaerobic/Oxic ratio over time range.

인의 방출과 호기공정에서 인이 흡수되고 있고, 그에 따른 PHAs의 축적과 소비도 확인이 되어 PHA의 생산에 있어 PAO 미생물이 중요한 역할을 담당하고 있음을 확인시켜 주었다. 하지만 PAO와 GAO의 기여 정도, 다양한 A/O비에 따른 PHA 수율 등에 대하여는 추가적인 연구가 필요하다. 또한 ADF 시스템의 경우는 인의 축적과 방출뿐만 아니라 PHA의 축적과 소비가 분명하게 나타나지 못하여, 하수처리를 이용한 PHA의 생산은 AODF 시스템이 적합한 것으로 판단된다.

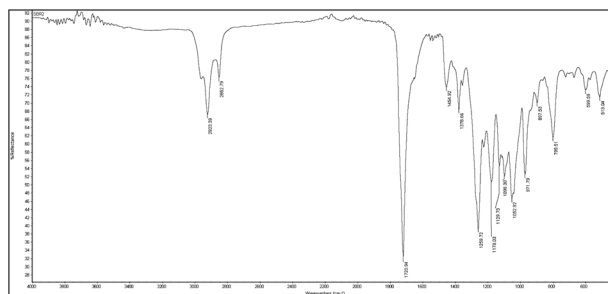
### 3.3. PHAs 물성

#### 3.3.1. FTIR 분석결과

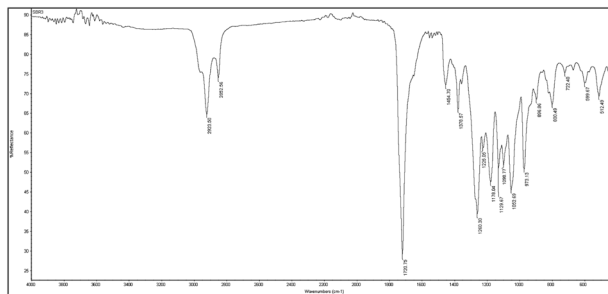
본 연구에서 사용된 표준 PHA와 SBR 1과 SBR 2에서 생산된 PHAs의 FTIR 분석결과를 Fig. 6에 나타내었다. Shah,<sup>15)</sup> Shamala,<sup>22)</sup> Otari,<sup>23)</sup> Salmiati<sup>14)</sup>의 연구에 의하면 미생물을 활용한 PHA의 분자구조는 공통적으로 Carbonyl (C=O)기가 존재하는 것으로 나타나고, 그 외 C-O기 등이 확인되어진다. Fig. 5에서와 같이 전체적으로 각 반응기에서 생산된 PHAs는 표준물질로 사용된 PHAs와 유사한 결과를 나타낸다. 또한, 1,750-1,700 (cm<sup>-1</sup>)에서 가장 강한 흡수가 관찰되어 Carbonyl (C=O)기가 존재하는 것으로 확인할 수 있고, 1,300-1,250 (cm<sup>-1</sup>)영역에서 강한 흡수가 일어나 esters가 존재하는 것을 확인할 수 있어, 본 연구에서 생산된 물질은 PHAs와 같은 구조를 가진다고 볼 수 있다.

#### 3.3.2. GPC 분석결과

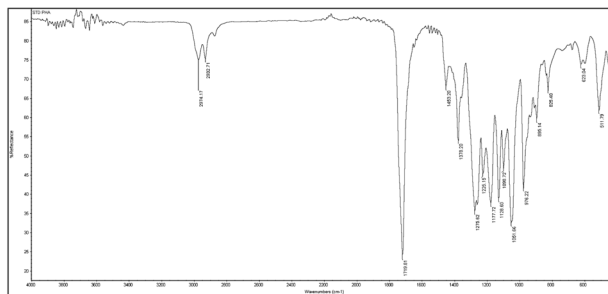
생산된 PHAs와 표준 PHA를 활용한 분자량 분석결과를 Table 6에 나타내었다. 결과와 같이 다분산지수(Polydispersity index)가 3.2-3.4 g/mol로 미생물에 의한 PHAs의 분자량이 비슷하다는 것을 보여준다. 특히 표준물질로 활용된 Poly (3-hydroxybutyric acid-co-3 hydroxyvaleric acid)보다 분자량이 큰 것으로 확인되어 더 많은 수의 고리를 가진 고분자 물질로 판단할 수 있다. 반응기 2에서 분자량이 높은 것은 혐기/호기 조건하에서 성장이 제한되는 조건에 기인된 것으



(a) Reactor 1



(b) Reactor 2



(c) PHA standard

Fig. 6. FTIR analysis results of PHAs produced from different SBR reactors.

로 해석된다. 이는 저 분자량의 polyphosphate가 혐기상태에서 분해되어 에너지원으로 사용되기 때문이다.

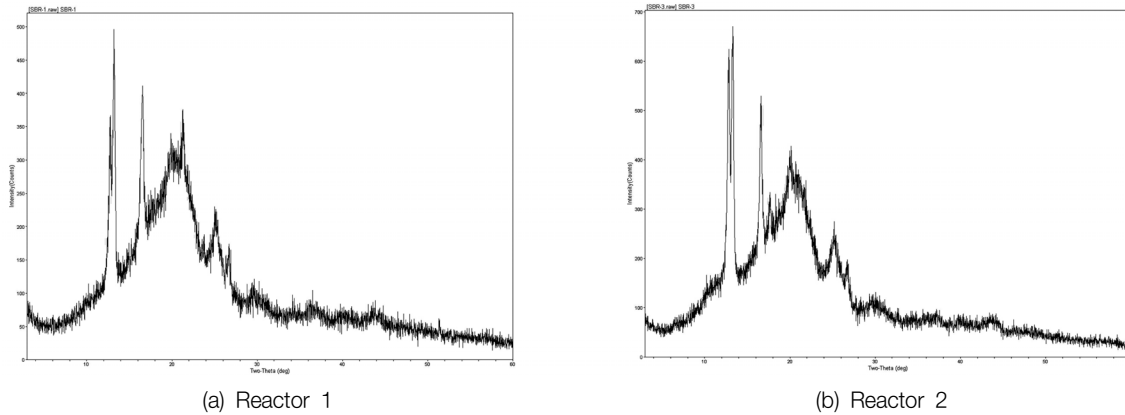


Fig. 7. XRD analysis results of PHAs produced from different SBR reactors.

Table 6. The result of GPC analysis for PHAs produced from SBR reactors

Sample	PHA standard	SBR1	SBR2
Number average molecular weight (Mn) units	1,299	4,264	4,489
Weight average molecular weight (Mw) units	1,311	13,844	15,425
Polydispersity index (Mw/Mn) units	1.009	3,247	3,436

### 3.3.3. XRD 분석결과

XRD는 기계적 특성을 보여주는 결정구조를 조사하기 위하여 사용되며, Rawte<sup>24)</sup>는 평균 분자량이 큰 PHAs가 결정성이 크다고 보고하고 있다. 이와 같은 결과에 따르면 반응기 2에서 생성된 PHAs가 가장 결정성이 좋은 것으로 추론할 수 있다. 본 연구를 통하여 각 반응기에서 생성된 PHAs에 대한 XRD 분석결과를 Fig. 7에 나타내었으며, 그림에 나타나 있는 2θ, degree points로 나타나는 회절형태나 강도에 기초하면 피크가 샤프하므로 반결정성이지만 피크 강도는 중 정도임을 확인할 수 있다. 그러나 반응기 2에서 생산된 PHAs를 보게 되면 피크강도가 높은 것을 확인할 수 있으며 이는 결정성이 크다는 것을 보여주고 있다.

## 4. 결론

본 연구에서는 하수처리과정에서 발생하는 슬러지로부터 바이오플라스틱인 PHAs을 생산하기 위해 울산광역시 소재 하수처리장의 슬러지를 대상으로 PHAs 생산 및 생산된 PHAs의 함량 및 물성특성을 조사하였으며, 본 연구 결과는 다음과 같다.

합성폐수 하수처리장의 미생물을 이용하여 연속회분식반응기에서 바이오플라스틱을 생산하는 미생물을 농축 배양하였으며, 영양조건이 다른 인공하수를 이용하여 적용하였다. 이 때 연속회분식반응기는 호기상태에서 폐수의 유입과 중단이 있는 ADF (Aerobic Dynamic Feeding) 조건과 혐기/호기조건에 폐수의 유입과 중단이 있는 AODF (Anaerobic/

Oxic Dynamic Feeding) 조건으로 운영되었으며, AODF 조건이 바이오플라스틱 생산에 더 나은 조건임을 확인하였다. 이는 AODF 시스템의 혐기상태에서 유기물이 높을 때 유기물을 PHA로 저장하며, 호기상태에서는 저장된 PHA를 사용하는 메커니즘에 PAO 등의 대사작용에 기인된 것으로 본 연구에는 바이오매스의 최대 40.0%까지 축적되는 것으로 나타났다. 생산된 PHAs의 물성을 파악하기 위한 FTIR, GPC, XRD의 분석결과에 따르면 생산된 PHAs의 물성도 우수한 것으로 확인되어, 혐기조를 통한 인처리 공정이 포함된 하수처리공정에서 인처리 미생물에 의한 PHAs의 생산은 충분히 가능할 것으로 판단된다.

## Acknowledgement

본 연구는 울산광역시와 교육부의 지방과학연구단지 기초·원천 R&D과제 지원사업으로 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

KSEE

## References

1. Ministry of Environment (South Korea), (2013) Statistics of Sewerage, pp. 1458~1459(2014).
2. Ministry of Environment (South Korea), Sewerage Division, "Fundamental plan for energy independence," pp. 4~10(2010).
3. Kim, M. J., "Bio material utilization technology (Research Focusing on bioplastic)," KRIBB, BT report, pp. 3~5(2012).
4. Small and Medium Business Administration, "Green production: Eco-friendly production," 2013 Technology Road Map for SME, pp. 43~45(2013).
5. Yoo, Y. S., "About Bio-plastic," *Korea Bio Mater. Packag. Assoc., The Monthly Packag. World*, **217**(2), 45~56(2011).
6. Jegal, J. G., "State and Prospects of Bioplastics," *J. Appl. Chem. Eng.*, **15**(4), 21~25(2012).
7. Chua, A. S., Takabatake, H., Satoh, H. and Mino, T., "Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: Effect of pH, sludge retention

- time (SRT), and acetate concentration in influent,” *Water Res.*, **37**(15), 3602~3611(2003).
8. Satoh, H., Mino, T. and Matsuo, T., “Anaerobic uptake of glutamate and aspartate by enhanced biological phosphorus removal activated sludge,” *Water Sci. Technol.; Micro. Activ. Sludge and Biofilm Proc. II Proc. 2nd Int. Confe. Micro. Activ. Sludge and Biofilm Proc.*, **37**(4), 579~582(1998).
  9. Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M. and Welander, T., “Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater,” *Bioresour. Technol.*, **99**(3), 509~516(2008).
  10. Mengmeng, C., Hong, C., Qingliang, Z., Shirley, S. N. and Jie, R., “Optimal production of polyhydroxyalkanoates (PHA) in activated sludge fed by volatile fatty acids (VFAs) generated from alkaline excess sludge fermentation,” *Bioresour. Technol.*, **100**(3), 1399~1405(2009).
  11. Park, T. J. and Lee, S. Y., “A Research and Application of Polyhydroxyalkanoates in Biosensor Chip,” *J. KSBB*, **22**(6), 371~377(2007).
  12. Park D. H. and Kim, B. S., “Characteristics of Polyhydroxyalkanoates Synthesis by *Ralstonia eutropha* from Vegetable Oils,” *J. KSBB*, **25**(19), 239~243(2010).
  13. Wen, Q., Chen, Z., Wang, C. and Ren, N., “Bulking sludge for PHA production: Energy saving and comparative storage capacity with well-settled sludge,” *J. Environ. Sci.*, **24**(10), 1744~1752(2012).
  14. Salmiati, Z. U., Salim, M. R. and Olsson, G., “Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from mixed microbial cultures by simple digestion and saponification,” In The 3rd IWA-Aspire, Conference and Exhibition. Working for Asia-Pacific Water Sustainability,(2009).
  15. Shah, K., “FTIR analysis of polyhydroxyalkanoates by a locally isolated novel bacillus sp. AS 3-2 from soil of kadi region, north gujarat, india,” *J. Biochem. Technol.*, **3**(4), 380~383(2012).
  16. Koller, M. and Niebelschütz, H., “Gerhart Braunegg, Strategies for recovery and purification of poly[(R)-3-hydroxyalkanoates] (PHA) biopolyesters from surrounding biomass,” *Eng. Life Sci.*, **13**(6), 549~562(2013).
  17. Riis V. and Mai W., “Gas chromatographic determination of poly-β-hydroxybutyric acid in microbial biomass after hydrochloric acid propanolysis,” *J. Chromatogr. A*, **445**, 285~289(1988).
  18. Yu, J., “Production of PHA from starchy wastewater via organic acids,” *J. Biotechnol.*, **86**(2), 105~112(2001).
  19. De Rijk, T. C., Van de Meer, P., Eggink, G. and Weusthuis, R. A., “Methods for analysis of poly(3-hydroxyalkanoate) (PHA) composition,” Biopolymers Online, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., (2005).
  20. Cho, K.-S., Ryu, H.-W. and Park, C.-H., “Production of Polyhydroxyalkanoates from Swine Wastewater,” *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **18**(10), 1259~1270(1996).
  21. Salehizadeh, H. and Van Loosdrecht, M. C. M., “Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: Recent trends and biotechnological importance,” *Biotechnol. Adv.*, **22**(3), 261~279(2004).
  22. Shamala, T. R., Chandrashekar, A., Vijayendra, S. V. N. and Kshama, L., “Identification of polyhydroxyalkanoate (PHA)-producing bacillus spp. using the polymerase chain reaction (PCR),” *J. Appl. Microbiol.*, **94**(3), 369~374(2003).
  23. Otari, S. and Ghosh, J., “Production and characterization of the polymer polyhydroxy butyrate-copolyhydroxy valerate by bacillus megaterium NCIM 2475,” *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, **1**(2), 23~26(2009).
  24. Rawte, T. S. M., “Characterization of polyhydroxy alkanoates-biodegradable plastics from marine bacteria,” *Curr. Sci.*, **83**(5), 562~564(2002).
  25. Wang, D., Chen, Y., Zheng, X., Li, X. and Feng, L., “Short-Chain Fatty Acid Production from Different Biological Phosphorus Removal Sludges: The Influences of PHA and Gram-Staining Bacteria,” *J. Environ. Sci. Technol.*, **47**(6), 2688~2695(2013).
  26. Lee, W. Y., Yoo, D. H., Kim, J. Y. and Choi, U., “Factors affecting the production of PHA (polyhydroxyalkanoates) using SBR,” In proceeding of the Spring Annual Conference of KSWW, *J. Korean Soc. Water*, **2001**(4), 269~272(2001).