

EFBBTM



【기술소개서 - 바실러스균】

알에이비시(주)

2024년

공개 범위 : 고객 그룹사 내



【기술소개서 - 바실러스균】

목차



- 바실러스종 혼합균에 관한 설명
- 바실러스균 우점화 처리

【바실러스종 혼합균에 관한 설명】

목차

- Bacillus spp.란?
- Bacillus spp.가 폐수처리에 적합한 이유
- 질소 제거의 원리
- 인 제거의 원리
- Bacillus spp. 배양 조건
- Bacillus spp.에서 생산되는 항생제의 종류
- Bacillus spp.에서 생산되는 효소와 그 역할
- 미생물 활성제의 역할
- Bacillus spp.를 고농도로 유지하는 이유

【Bacillus spp.란?】

- 그람 양성진정세균으로 단세포성 내세포자(endospore)라고 하는 특이한 형태의 휴면세포를 형성한다.
- 활발하게 증식·분열하는 동안은 내세포자는 형성되지 않지만, 영양물질이 감소하여 영양세포가 대수증식기를 지나면 포자의 분화가 시작된다.
- 일반적으로 하나의 영양세포에서 하나의 내세포자가 형성된다. 따라서, 포자 형성은 생존의 수단이지 증식의 수단은 아니다.
- 내세포자는 열, 자외선, 전리방사선과 많은 독성 화학물질에 대해 저항성이 크다.
- 단세포성 내세포자 형성균들은 모두 이분법으로 증식한다. 일부를 제외하고는 모두 간상균이다.
- 운동은 주모성 편모를 이용해 운동한다.
- 화학종속영양성으로 호기성 호흡, 질산(혐기성) 호흡 또는 발효에 의해 유기화합물을 이화한다. 미생물은 광합성세균을 제외하고는 빛이 필요하지 않다. 오히려 빛의 존재는 미생물에 대해 유해작용을 한다.
- 전형적인 서식장소는 토양이다.
- Bacillus spp.는 유일 탄소원으로 당, 유기산, 알코올 등을, 유일 질소원으로 암모늄이 함유된 합성배지에서 잘 성장하며, 일부의 종은 비타민을 요구할 때도 있다.
- 많은 Bacillus spp.는 다당류, 단백질, 핵산, 유지분을 분해하는 세포의 가수분해효소(catalase, superoxidedismutase)를 생산함으로써 이러한 물질들을 탄소원과 전자공여체로 이용할 수 있게 한다.
- 항생물질을 생산하는 종류도 많고, 이런 항생물질에는 bacitracin, polymyxin, tirocydin, gramicidin, circulin 등이 있다. 이들 항생물질의 생산은 포자형성과정과 관련이 있으며 항생제가 방출되는 것은 배양체가 정지기의 성장단계에 들어갈 때로 그 후 포자 형성이 시작된다. 현재, 이 항생물질은 다량 생산되어 상품화되어 있다.

【Bacillus spp.란?】

- 세균의 살충제로도 이용할 수 있다. 이용되는 Bacillus spp.로는 B.popilliae, B.thuringiensis, B.lentimorbus 등이 있고, 이것들은 곤충류인 무척추동물에게는 치명적이나 척추동물에는 전혀 해가 없다. 현재, 미생물농약으로 개발돼 상품화한 것은 이들 균을 이용한 것이다.
- 6개의 중요한 생물 원소들(탄소, 질소, 황, 수소, 인, 산소) 중에서 지구대사산물에는 단 두 개의 원소 질소와 황이 빠져 있다. 이들은 생합성 경로에서 특정 반응의 결과로 세포의 구성물질로 전환한다. 이 두 원소는 환원된 형태로 생합성 대사과정이 시작된다. 즉, 질소는 암모니아(NH₃)의 형태이고 황은 황화수소(H₂S)의 형태이다. 하지만, 이 원소는 환경에 따라 다른 화학적인 형태로 이용된다. 즉, 유기화합물의 구성물질로 또는 다른 산화상태의 무기물 형태로 이용된다. 여기서 중요한 것은 폐수처리과정에서 발생하는 악취의 주원인은 암모니아와 황화수소인데 앞서 언급한 것처럼 직접 바실러스균이 섭취하기 때문에 악취가 발생하지 않고 결과적으로 질소도 함께 제거된다.
- Bacillus spp.는 내생포자의 구조와 그 세포 내의 결합 부위에 따라 다음과 같이 분류되어 오염물질을 분해 섭취하는 과정도 달라진다.

I군 : B.alcel, B.brevis, B.cirulans, B.licheniformis, B.megaterium, B.pumilus, B.subtilis, B.thuringiensis 등

II군 : B.alvei, B.macerans, B.polymyxa, B.popilliae 등

III군 : B.coagulans, B.stearothermophilus, B.thermoruber 등

IV군 : B.acidocaldarius, B.acidoterrestris, B.aycloheptanicus 등

V군 : B.alginalyticus, B.azotoforinans, B.badius 등

VI군 : B.aminovorans, B.marinus, B.pasteurii, B.sphaericus 등

미확인군 : B.benzoevorans, B.fastidiosus, B.nagunoensis 등

【Bacillus spp.가 폐수처리에 적합한 이유】

- 폐수 속에 들어 있는 각종 오염물질 중 분해하기 어려운 다당류, 단백질, 유지분, 핵산 등을 분해하는 강력한 가수분해 효소인 catalase와 superoxidedismutase가 부산물을 다량 생산함으로써 Bacillus spp.가 분해하기 어려운 오염물을 섭취하기 쉬운 탄소원의 전자공여체로 바꾸기 때문에 Bacillus spp.의 성장도 좋고 오염물질이 소모되면서 폐수가 정화된다. 단, 모든 세균은 산소와 반응할 수 있는 특정 효소를 갖고 있으나 이 효소의 수와 다양성은 산소에 대한 생물체의 생리적인 관계를 결정한다. 산소에 의한 flavoprotein의 산화는 언제라도 주요 생성물의 하나인 유독물질 H₂O₂의 형성을 초래한다. 이외에도 이들 산화반응은 더 독성이 강한 소량의 radical, 즉 과산화물(O₂⁻)을 생성한다. 호기성 및 혐기성 미생물에 있어서 과산화물(O₂⁻)이 치명적인 양으로 축적되는 것은 superoxidedismutase에 의해 방지되지만, 이 효소는 과산화물을 산소와 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진한다.

superoxidedismutase



또한, catalase도 같은 역할을 한다.

catalase



즉, 위와 같은 역할 때문에 산소대사의 결과로 생기는 독성으로부터 세포를 보호하는 역할을 한다.

【질소 제거의 원리】

· DO가 1.0mg/l(이 경우의 ORP는 250mV 정도) 이하의 경우는 산소 섭취를 놓고 질산화미생물과 종속영양미생물간의 경쟁으로 질산화미생물이 타격을 입게 된다.

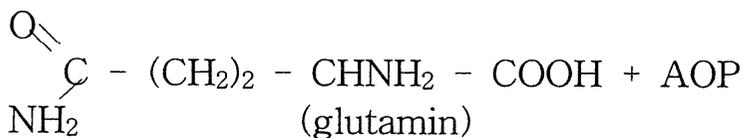
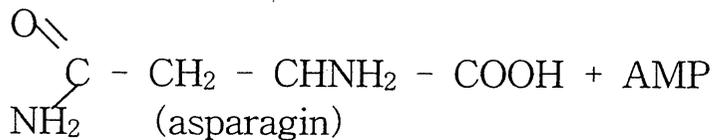
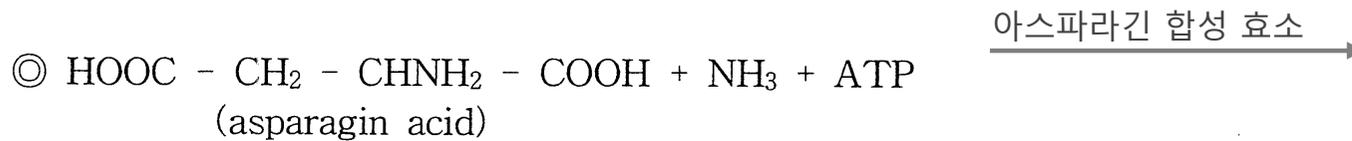
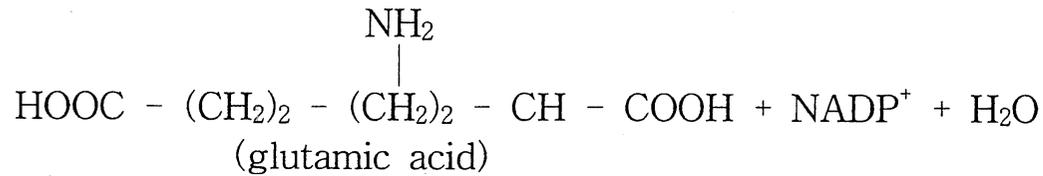
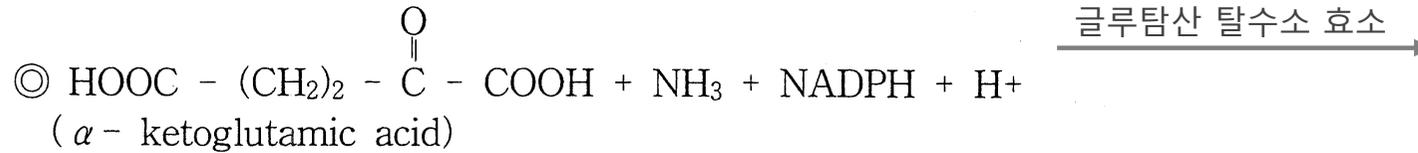
더구나, 무산소 상태에서 인 방출의 저해에 대한 직접적인 원인을 유기물 경쟁력의 차이로 보는 것이 아니고 질산성 질소가 산소와 같이 전자수용체의 역할을 하기 때문에 인 방출이 저해된다고 생각된다. 즉, 질산화가 되지 않으므로 Bacillus spp.가 섭취하는 amine기라든가 암모니아성 질소 및 ammonium염 상태가 그대로 유지되면서 질소제거를 할 수 있다.

그리고, 생물학적인 인의 섭취는 DO가 0.1mg/l(이 경우의 ORP는 80mV 정도)로 poly-phosphate가 합성하기 시작하면서 0.5mg/l(이 경우의 ORP는 200mV 정도)에서 인의 섭취가 최대가 되는 것으로 알려져 있어 인 섭취에 방해가 되는 질산성 질소에 대한 방해 및 최적의 DO가 유지되기 때문에 인 제거의 효율도 크다. 또한, 균체의 농도가 높기 때문에 이들 영양 염류에 대한 요구량은 더 크다.

즉, 세포의 구성물질을 $C_{50}H_{87}O_{23}N_{12}P$ 라고 가정할 때 1kg의 세포를 합성하는 데 0.12kg의 질소가 필요하다.

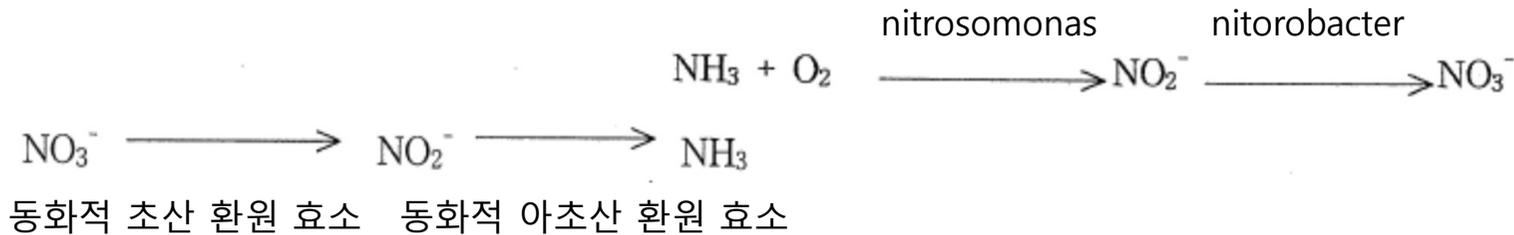
· 미생물의 주요 생물 원소들(탄소, 질소, 황, 수소, 인, 산소) 중의 전구대사산물에서 두개의 원소 질소와 황이 빠져 있다. 이들은 생합성 경로에서 특정 반응의 결과로 세포의 구성물질로 전환한다. 이 두 원소는 환원된 형태로 생합성 대사과정이 된다. 즉, 질소는 암모니아(NH_3)의 형태이고 황은 황화수소(H_2S)의 형태이다. 그러나, 이 두 원소는 환경에 따라 다른 화학적인 형태로 이용될 수 있다. 즉, 유기화합물의 구성물질로 또는 다른 산화상태의 무기물 형태로 이용될 수 있다. (예, SO_4^- , NO_3^-), 암모니아나 황화수소의 형태로 섭취되어 생합성 대사과정을 거치게 되므로 약취가 부수적으로 제거되고 미생물의 단백질 합성 메커니즘으로 탈취 효과가 있게 된다. 이런 이유로 pH가 6.5~6.8정도까지 떨어진다.

【질소 제거의 원리】



【질소 제거의 원리】

- 많은 미생물에서는 아초산염이온(NO_2^-)이 질소원으로 사용되는데 NO_3^- 에서 질소원자의 원자가는 +5인데 이 질소원에서 질소가 동화되려면 먼저 암모니아의 산화수준(-3)까지 환원되어야 한다. 질산염은 어떤 미생물에서 혐기성 호흡의 최종 전자수용체로 작용할 때에도 역시 환원된 뒤 이용된다.



- 질소 제거에 탁월한 효과를 나타내는 *Bacillus* spp.
 : 바실러스종 혼합균은 탄소원 및 에너지원으로 주로 유기물을 이용하는데 일부 바실러스종 혼합균(예, *B.licheniformis*, *B.fastidiosus*, *B.pasteurii* 등)은 요소, Furine 및 암모늄을 섭취·분해해 질소원 및 에너지원으로 이용하여 성장한다.
 - *B.licheniformis* : 강력한 탈질소 박테리아로 초산의 존재 하에서는 비발효성 유기질을 이용해 성장한다.
 - *B.fastidiosus* : 절대 호기성으로 Furine, 요산을 산화적으로 분해한다. 이 물질은 유일한 탄소원, 에너지원 그리고 질소원으로 이용되어 성장한다. 실험한 다른 유기화합물 중에서 요산 분해 경로에서의 중간체만을 유일한 탄소원과 에너지원으로 사용된다.

【인 제거의 원리】

- 생물학적인 섭취는 용존산소 농도 0.1mg/l(이 경우의 ORP는 80mV 정도)에서 poly-P 합성이 시작되면서 0.5mg/l(이 경우의 ORP는 200mV 정도)에서 인 섭취가 최대가 되는 것으로 알려져 있다. 즉, 용존산소의 농도가 1mg/l 이하로 유지될 경우 질산화는 직접적으로 영향을 받지만 인 섭취에는 별 문제가 없다. Bacillus spp.의 최적 성장 조건의 하나가 용존산소의 농도가 0.1mg/l에서 1mg/l 이하이기 때문에 인의 제거율이 최대이며 초산화도 일어나지 않아 암모늄염 상태에서 미생물에 직접 섭취된다. 또한, 인은 세포구성물질을 $C_{50}H_{87}O_{23}N_{12}P$ 라고 가정할 때 1kg의 세포를 합성하는데 0.025kg의 인이 필요하며, 탄소 50%, 산소 20%, 질소 14%, 인 3%를 차지하는데, 핵의 총질량의 35%를 차지하고 있어 단백질과 RNA 등의 구성물질이 되어 있다. 그리고, 인은 ATP, 핵산과 조효소 NAD, NADP와 flavin의 구성성분의 하나이다. 균의 농도가 높을수록 인 제거 효율은 높아진다.

【Bacillus spp. 배양 조건】

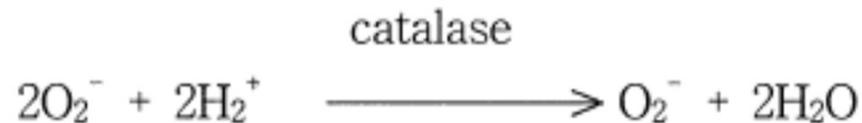
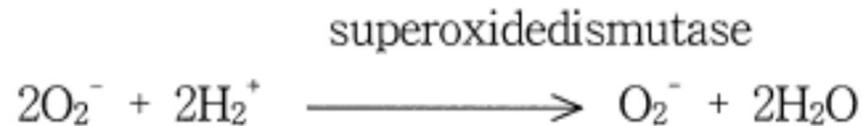
- Bacillus spp.가 성장하기 좋은 조건은 ORP가 200~250mV로 유지되어서 pH가 6.0~6.8인 약산성, 온도는 20~35°C, 탄소/질소의 비율이 2이상, 특별히 조제된 미생물 활성제를 넣어서 고농도를 유지하기 위해 폭기액을 가변적으로 순환하여 침전지의 슬러지를 가변적으로 반송하는 것이다.

【Bacillus spp.에서 생산되는 항생제의 종류】

- Tyrocidin은 B.brevis로, acitracin은 B.licheniformis로, Polymixin B는 B.polymyxa로, Granicidin 및 Ciraulin은 B.brevis로 만들어지고 이것은 의약품으로 사용되고 있다.

【Bacillus spp.에서 생산되는 효소와 그 역할】

- superoxidedismutase와 catalase가 생산되는데, 이는 강력한 가수분해효소로 과당, 단백질, 유분 등에 작용해 미생물이 섭취할 수 있게 한다. 또한, 산소에 의한 flavoprotein의 산화는 항상 그 주요 생성물질의 하나로 H₂O₂의 형성을 초래하며, 이외에도 보다 독성이 강한 소량의 radical, 즉 과산화물(O₂⁻)을 생성하여 치명적인 양으로 축적되는 것을 이들 효소가 산화와 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진한다.



즉, 위와 같은 역할 때문에 산소대사의 결과로 생기는 독성 효과로부터 세포를 보호하는 역할을 한다.

【미생물 활성제의 역할】

- S_1O_2 는 사상체의 성장에 관여하여 인의 섭취를 원활하게 한다.
- Mg는 포자화 과정에서 리보솜, 포자막, 핵산 등의 구조를 안정화시키는 데 관여하며 여러 효소, 특히 인산전이효소의 활성화에도 필요하다.
- Mn은 많은 효소 활성제로 작용하여 미생물에 유독한 산소유도체를 해독하는 데 중요한 역할을 갖는 불균등화효소 (superoxidedismutase)의 분비에 관여한다.
- Ca은 포자 형성시 표피의 성분으로 소요(逍遙)되고 나머지는 인 성분과 결합하여 침전되므로 인의 제거에도 관여한다.

【Bacillus spp.를 고농도로 유지하는 이유】

- Bacillus spp.는
 - 하수처리의 경우 균의 농도는 $10^6 \sim 10^8$ 개/ml,
 - BOD가 500~2,000mg/l의 경우 균의 농도는 $10^7 \sim 10^9$ 개/ml,
 - BOD가 2,000~5,000mg/l의 경우 균의 농도는 $10^8 \sim 10^{10}$ 개/ml,
 - BOD가 5,000mg/l 이상의 경우 균의 농도는 $10^9 \sim 10^{12}$ 개/ml 정도로

유지시키면 고효율의 처리수를 얻을 수 있다.

EFBB시스템에서 핵심기술은 Bacillus spp.를 고농도로 농축시키는 것이다.

즉, 고농도로 유지하면 처리효율이 높아지기 때문이다.

【바실러스균 우점화 처리】

목차

- 바실러스균 우점화 처리의 정의
- 바실러스균의 개요
- 바실러스균이 갖는 처리 특성
- 바실러스균 처리의 우수성
- 바실러스균 우점화 현미경 조사법

【바실러스균 우점화 처리】

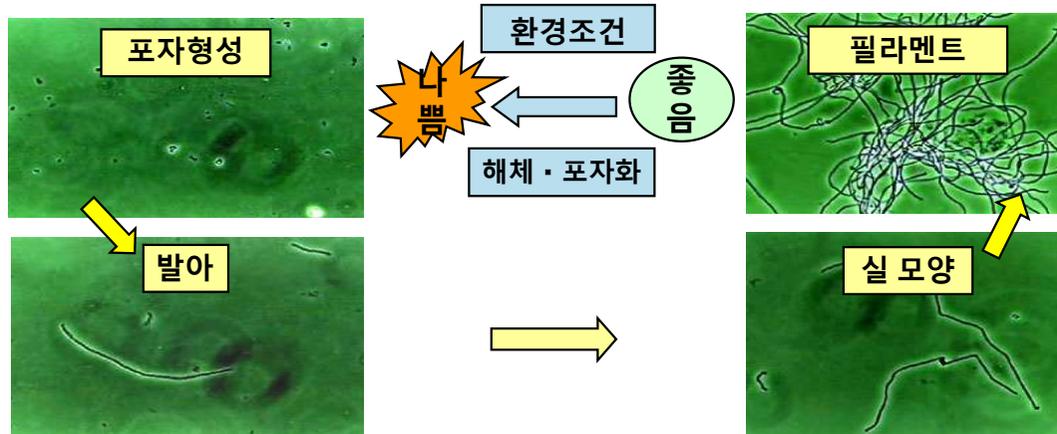
1. 바실러스균 우점화 처리의 정의

- 반응조 내의 바실러스균 농도를 보다 높혀, 또는 보다 유효한 바실러스균종의 증식을 꾀하는 것에 의해 바실러스균이 갖는 각종 능력을 최대한 이끌어내 수질의 개선, 슬러지의 개질 등을 실현하는 처리방법

2. 바실러스균의 개요

- 주위에 많이 존재하는 아주 평범한 토양세균.
- 홍차, 우롱차, 낫토, 된장, 절임식품, 한방약 등에 포함 활성슬러지세균의 일부로도 존재).
- 미생물학적으로는 바실러스속 세균이라 불리며 진정세균의 속으로 포자를 형성하는 것이 큰 특징.
- 번식력이 강하고 높은 pH나 저온, 고염농도, 고압 등 다양한 극한환경에도 적응(내성이 큼).
- 포자로부터 발아하면 간균이 되어 영양 등의 생육조건이 갖추어지면 필라멘트화하여 성장. 이후 빈영양상태가 되면 포자화.

(바실러스균의 라이프 사이클)



【바실러스균 우점화 처리】

3. 바실러스균이 갖는 처리 특성

① 강력한 제거기능으로 이어지는 생화학적 성질 → 수처리 기능의 개선·향상

- 유기성분의 분해성, 자화성(미생물이 어떤 물질을 영양원으로 이용해 증식할 수 있는 성질)을 가집니다.
- 고기 조각, 단백질을 분해합니다 (단백질을 분해하는 세균은 흔치 않음).
- 전분을 포도당까지 분해합니다.
- 지방을 분해합니다.
- 질소원을 직접 미생물이 섭취하여 제거합니다.
- 인을 고농도로 유지되는 미생물에 의해 섭취시켜 제거합니다.

② 악취성분의 흡수·섭취·분해 능력 → 악취의 저감·악취대책의 불필요화

- 폐수 악취의 주된 원인은 질소와 유황의 화합물이며 바실러스균은 특히 질소와 유황을 좋아하는 세균입니다.
- 바실러스균은 배수중의 암모니아나 황화수소를 직접 섭취하므로 악취가 발생하지 않습니다.
- 슬러지 중에도 바실러스균이 존재하기 때문에 슬러지 처리실이나 슬러지 케이크도 냄새가 나지 않게 됩니다.

【바실러스균 우점화 처리】

3. 바실러스균이 갖는 처리 특성

③ 악조건하에서 처리기능 유지에 도움이 되는 포자형성능력 → 부하 변동에 대한 내성

- 빈영양 상태가 되면 세포 중에 포자를 형성하고 호조건이 되면 발아하여 증식합니다.
- 포자는 100℃의 고온에도 견디는 등 악조건에 강해 증식한 균이 사멸하지 않고 균의 수가 유지됩니다.
- 균의 수가 유지됨으로써 악조건하에서도 처리기능을 유지할 수 있습니다.

④ 항생물질, 효소의 분비 → 수처리 기능의 개선·향상

- 포자형성 과정에서 항생물질을 분비합니다.
- 분비된 항생물질은 일반세균 및 대장균 등을 사멸시키는 효과를 가지고 있습니다.
- 강력한 가수분해효소를 분비하여 난분해 단백질, 지방질 등을 분해합니다 (수처리 기능 향상).

⑤ 흡착성과 응집성 → 슬러지의 개질·감량화

- 포자형성 과정에서 점성물질을 분비합니다.
- 서로 응고하면서 주위의 부유물질을 흡착하여 큰 플록을 형성합니다 (고액분리의 향상).

【바실러스균 우점화 처리】

4. 바실러스균 처리의 우수성

① 수처리 안정

· 강력한 제거기능을 가지는 것과 동시에 슬러지의 침강성이 향상되어 고액분리가 충분히 이루어져 수처리의 안정성이 증가합니다.

② 부하변동에 대한 내성

· 포자형성능력에 의해 악조건에서도 처리기능을 유지할 수 있어 부하변동에 대한 내성이 증가합니다.

③ 악취의 대폭 저감

· 오수·슬러지로부터의 악취발생이 대폭 저감되어 탈취장치의 부하 저감, 규모 축소, 혹은 삭감을 도모할 수 있습니다.

④ 슬러지의 개질·감량

· 무취화에서 볼 수 있듯이 슬러지의 개질이 이루어짐과 동시에 슬러지의 감량이 실현됩니다.

⑤ 슬러지의 유효이용 확대

· 토양개량제 및 농작물 병해충 방제제로서도 유효이용의 가능성이 넓어집니다.

⑥ 시설·설비의 장기 수명화

· 시설의 부식·열화의 큰 원인인 황화수소 농도가 감소하여 시설·설비의 장기 수명화를 도모할 수 있습니다.

⑦ 작업환경 개선

· 악취 감소, 슬러지의 개질 등에 의해 작업 환경이 개선됩니다.

⑧ 유지관리비용 절감

· 탈취설비의 대폭 축소, 슬러지 감량, 반응탱크의 저폭기운전 등에 의해 유지관리의 비용이 절감됩니다.

【바실러스균 우점화 처리】

5. 바실러스균 우점화 현미경 조사법 (그람-포자 염색, 양성 및 카타라제 시험, 산소기포 발생)

구 분	홍익대 (RABC)	J하수처리장 (RABC)	K하수처리장 (B3)	K하수처리장 (AS)	비고
그람 염색 (양성)					칼 자이스 현미경 10X100
포자 염색 (양성)					
카타라제 테스트 (산소기포)					칼 자이스 현미경 10X10

(출처: 염정민, 바실러스 슬러지의 제반 특성에 관한 연구, 홍익대 대학원 석사논문, 2009)

EFBBTM



문의 알에이비시(주)
 대표이사 김건 (전자메일 : kunkim@rabc.co.kr)

본사 알에이비시(주)
 〒07801 서울특별시 강서구 마곡중앙6로 11, 314-41
 전화 : 070-7868-0220 kunkim@rabc.co.kr

홈페이지 <http://rabc.co.kr>