

## 제1장 서론

급속한 인구증가와 고도 경제성장이 추구되면서 산업발전과 더불어 용수부족은 날로 심각해지고 있다. 그러나 우리나라는 유럽이나 미국, 일본 등과 같이 천혜의 수자원이 부족하고, 거의 모든 용수를 지표수에 의존하고 있어 오염된 하천의 수질 개선 및 수자원 확보차원에서 많은 수량 확보 뿐 만 아니라 양질의 용수를 얻는 것이 절실한 실정이다. 그리하여 최근 정부에서는 하천의 수질보전을 위하여 맑은 물 공급종합대책, 수질관리개선대책, 21세기 환경비전 등의 물 보존을 위한 대책을 수립하고, 1996년 1월 1일부터는 질소 및 인까지 하수처리장 및 분뇨, 축산폐수처리장의 방류수 수질기준을 수질환경보전법에 명시하여 규제하고, 2002년 1월 1일부터는 더욱 강화된 방류수 수질기준으로 규제하고 있다. 그러나 우리나라 주요 저수지 및 다목적 댐의 경우 대부분 부영양화 상태가 진행 중에 있어, 현재와 같이 질소·인이 미처리된 하수가 계속 유입될 경우 모든 용수원은 오염에서 벗어날 수 없게 된다.

### 제1절 연구배경 및 목적

하수고도처리 공정에 대한 국내의 기술개발 열기와 진척속도는 괄목할 만하나, 대부분이 외국의 기존 기술인 BNR 공정을 다소 개선하는 수준에 머물고 있어, 기술우위의 해외 하수처리 공사 수주는 거의 시도하지 못하고 있는 실정이다. 최근 국내에서 개발된 B3 공법, HBR 공법 등 사실상 바실러스균 (*Bacillus* sp.)을 우점종으로 하는 부유미생물 공법에서 보듯이, 바실러스균을 하·폐수처리에 활용하면 탈취문제가 쉽게 해결되고 또 질산화공정을 거치지 아니하고도 질소 제거효과가 탁월하면서 또 인의 제거 효과까지 보이는 등 기존의 활성슬러지 처리개념으로는 잘 이해가 되지 않는 특이한 처리효과가 있다는 사실은 이미 일부에서 실증되고 있는 실정이다.

그러나, 현 단계에서 소위 바실러스균의 미생물학적인 특성을 과학적으로 입증하지 못한 수준에 머물고 있으며, 또 부유미생물 형태로 바실러스균을 고밀도로 유지하는 데는 기존의 국내 기술에서도 어려움이 있으며, 따라서 경제성 제고도 만족할 수 없는 실정에 있다.

이에, 본 연구에서는 미호기성 혹은 통성혐기성 세균 (microaerobic or facultative anaerobic bacteria)인 바실러스균에 대한 미생물학적 특성을 토대로 미생물활성제의 고성능화를 도모하고, 다단의 망상형 회전담체에 바실러스균을 고정시켜 우점화시키는 신 공정기술 (Rotating Activated Bacillus Contactor, RABC)을 개발하여 유기물제거는 물론 질소, 인을 고효율로 제거하면서 별도의 탈취시설이 필요 없이 처리수를 BOD 5mg/ℓ 이하, TN 5mg/ℓ 이하, TP 0.5mg/ℓ 이하로 안정적이면서 경제적으로 처리할 수 있는 신공정을 개발하고자 한다. 이러한 독창적인 하수고도처리 공정기술의 개발로 국내 보급은 물론 선진국 하·폐수처리시설로의 기술수출 효과를 조기에 낼 수 있을 것으로 확신하고 있다.

본 연구는 2년간에 걸쳐 수행되었으며 각 해당연도의 연구목적은 다음과 같다.

1차년도에 해당하는 RABC SYSTEM 모형실험은 환경부에서 시행하는 차세대 핵심환경기술개발사업의 중점과제인 하수처리장 효율향상·고도처리기술 과제로서 50m<sup>3</sup>/day 규모로 설치 운전하여 RABC SYSTEM의 설계인자, 운전조건, 바실러스균 우점화 조건 및 기질의 제거 메커니즘을 구명하는데 목적이 있다.

2차년도의 연구목적은 이미 공동연구기관인 세일기술(주)이 최근에 개발한 “특수섬유를 사용한 망상형 회전식 미생물 접촉장치(RABC)를 이용한 하·폐수고도처리 공법 (SEIL BIO SYSTEM)”의 기본 기술을 바탕으로 하여, 1) 바실러스균의 미생물학적 특성 규명을 통한 고성능 미생물활성제의 개발, 2) RABC의 다단화 및 침지율 조정 등을 통한 RABC 위주의 처리공정 기술로의 개발을 주요 목표로 하고 있다.

따라서 본 개발연구의 최종목적은 1차 연도 연구에서 RABC SYSTEM 공법으로 잠정 목표수질(BOD 10mg/ℓ 이하, T-N 10mg/ℓ 이하, T-P 1mg/ℓ 이하)을 모두 만족하는 성과를 토대로 하여 신규의 하수 고도처리시설에의 적용할 때 경제성 제고는 물론, 기존 2차처리 시설의 고도처리용 개장(retrofitting)시 포기조의 상당부분을 RABC 설치 공간으로 용이하게 활용할 수 있는 기술로 개발하여, 유기물제거는 물론 질소, 인을 고효율로 제거하여, 처리수를 BOD 5mg/ℓ 이하, T-N 5mg/ℓ 이하, T-P 0.5mg/ℓ 이하로 안정적이면서 경제적으로 처리할 수 있는 신공법을 개발하는데 있다.

## 제2절 연구내용 및 범위

1차년도의 연구를 위하여 다단(4단)의 파일럿 플랜트 RABC 실험장치를 고양시 난지하수처리장내에 설치하였고, 여러 운전조건을 맞추어 처리실험을 중심으로 연구를 수행하였다. 한편 바실러스균에 대한 미생물학적인 연구를 위탁 수행하여 RABC 하수고도처리 공정의 설계인자를 파악하였다. 미생물에 관한 연구에서는 RABC 공정내의 미생물등을 분리·배양한 후 유전자 (DNA)분석과 단백질 분해세균 분리·동정 실험을 통하여 바실러스균의 종류와 미생물학적 특성등을 파악하였으며 동시에 바실러스균의 고도처리 능력에 관한 연구도 수행되었다. 또한 바실러스균을 종균제로 사용하기 위한 최적 포자화 기법에 관한 연구도 진행되었다.

2차년도의 연구는 평택시 하수처리장에 설치되어 있는 실증 플랜트의 RABC 실험장치를 통하여 RABC SYSTEM의 일반하수처리장의 적용가능성과 향후 강화되는 질소, 인등의 배출허용기준을 만족할 수 있는 고도처리공법을 연구개발하였다. 또한 회분 실험을 통하여 바실러스균의 동역학적 상수를 결정하여 RABC 공정의 생물반응조 설계 및 운전인자에 반영하고자 하였고 바실러스균의 항균작용으로 인한 RABC 공정의 대장균 제거효과에 관한 연구도 동시에 수행되었다.

## 제2장 국내외 기술개발 현황

### 제1절 바실러스균의 분류 및 특성

#### 1. 바실러스균의 분류

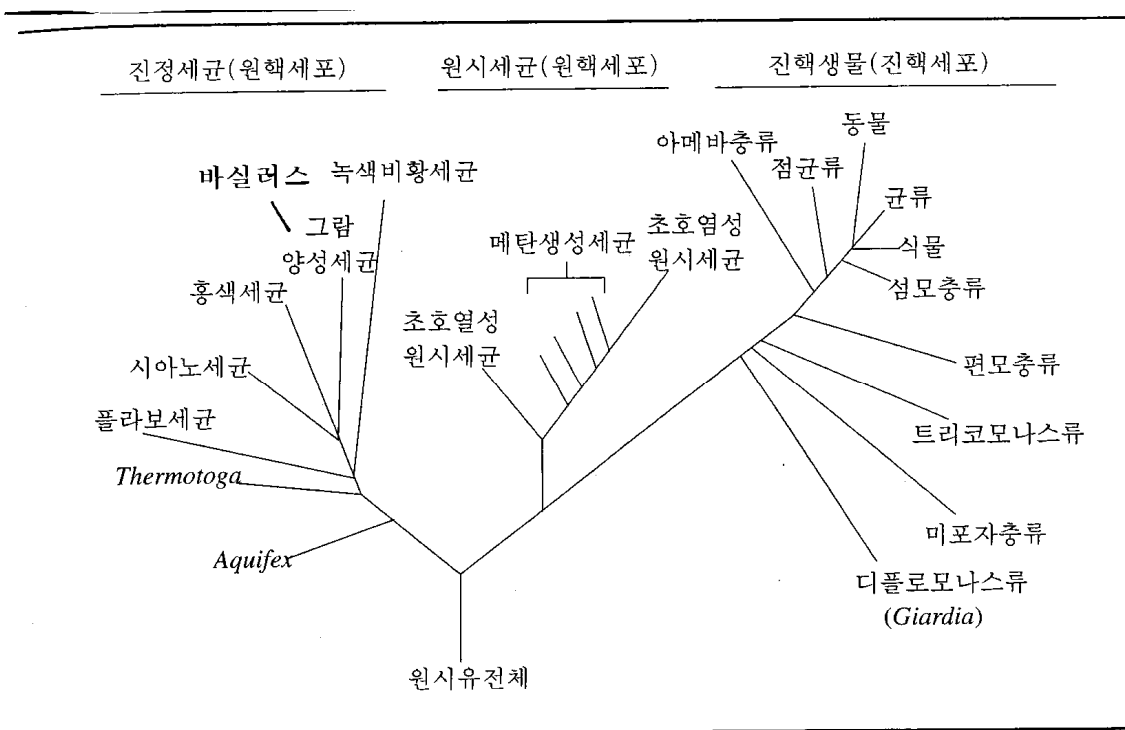
##### 가. 생물 및 미생물 분류 체계

바실러스균(*Bacillus*, 바실러스)은 눈으로는 볼 수 없는 아주 작은 크기의 미생물이다. Whittaker(1969)는 생물체를 영양소 섭취방법과 진화경로를 추정하여 5계(界, kingdom)로 분류하였다. 즉 스스로 영양소(nutrients)를 합성(synthesis)하는 식물계(Plantae), 다른 생물체가 만든 영양소를 분해한 뒤 흡수(absorption)하는 균류계(Fungi), 다른 생물체나 유기물을 그대로 섭취(ingestion)하는 동물계(Animalia)로 크게 3분한 다음, 이들 3계의 생물체가 진화된 경로를 추정하여 원핵세포로 구성된 제일 하등한 생물체로서 세균을 포함하는 모네라계(Monera), 그 밖의 다른 진핵세포인 조류(algae)와 원생동물(protozoa)을 포함하는 원생생물계(Protista) 등이다. 5계 분류법에서 원핵세포로 구성된 *Bacillus*는 당연히 모네라계에 속한다.

그러나 이런 5계 분류법은 대사(metabolism)와 같은 겉으로 나타나는 표현형적인 특징에 기초한 것이기 때문에, 눈으로는 그 특징을 확인할 수 없는 미생물의 분류에 있어서는 5계 분류법이 적합하지 않다는 주장이 끊임없이 제기되어 왔다. 그래서 Carl Woese(1990)는 모든 생물체가 공통적으로 갖고 있는 유전자 즉 유전형적 특징으로서 미생물에 대한 분류를 시도하였다. 즉 세포로 구성된 지구상의 모든 생물체는 리보솜(ribosome)이라는 공통적인 단백질 합성장치를 갖고 있으며, 이 리보솜은 리보솜 RNA(ribosomal RNA, rRNA)와 단백질로서 구성되어 있으므로 이 rRNA를 전사(轉寫, transcription)하는 유전자 즉 rDNA의 염기서열을 비교하면 생물체의 분류가 가능한 것으로 판단하였던 것이다. 그 결과 지구상의 모든 세포성 생물체(cellular organisms)는 원시유전체(progenotes)라는 공동조상에서 진화되어 현재 진정세균(*Bacteria*), 원시세균(*Archaea*), 그리고 진핵생물(*Eucarya*)의 세 도메인(domain, 영역)으로 구성되어 있다고 주장하였다.

진정세균 및 원시세균의 두 도메인은 원핵세포로 구성된 5계 분류법에서의 모네

라계에 해당되며, 진핵생물 도메인에는 5계 분류법에서 모네라계를 제외한 나머지 4계의 모든 생물체가 포함한다. 이런 결과로 미루어 미생물은 유전형적 특징이 매우 다양하여 생각보다 많은 무리로 분류할 수 있는 반면, 형태적으로 뚜렷이 구분되어 아주 다양하다고 보이는 진핵세포성 동식물과 미생물은 유전자에 있어서는 큰 차이가 없다는 것을 알 수 있다. 현재 생물 분류 특히 미생물 분류는 <그림 2-1-1>과 같은 Woese의 유전자에 기초한 3 도메인 분류법을 따르고 있는 것이 추세이다. 3 도메인 분류법에서 *Bacillus*는 진정세균 도메인에 속한다(민봉희 외, 2001).



<그림 2-1-1> 리보솜 DNA에 염기서열에 의거한 생물의 계통분류도

#### 나. 바실러스균의 분류학적 위치

<그림 2-1-1>의 계통분류에 의하면 바실러스는 진정세균 도메인[Domain Bacteria]의 그람양성세균 문[Phylum Firmicutes(Gram-positive bacteria)]의 바실러스 강[Class Bacilli]의 바실러스 목[Order Bacillales]의 바실러스 과[Family Bacillaceae]의 바실러스 속[Genus *Bacillus*]으로 분류된다(NCBI, 2003).

## 2. 바실러스균의 특성

### 가. 주요 특징

바실러스균의 가장 큰 특징은 내생포자(endospores)를 형성한다는 것이다. 내생포자를 형성하는 세균은 바실러스 과로 분류하고 있으며 여기에 해당하는 속에는 바실러스 속과 더불어 산소가 없는 곳에서는 살 수 있는 절대 혐기성 세균집단인 클로스트리디움 속(Genus *Clostridium*)이 있다(Starr 등, 1981).

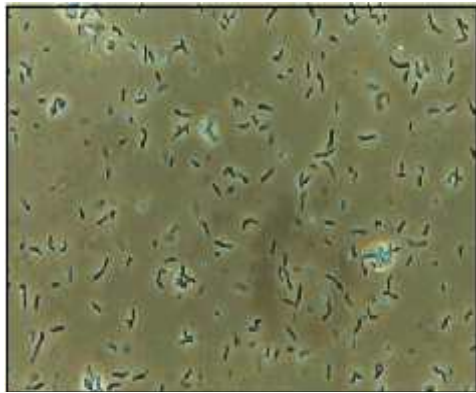
바실러스균의 내생포자 형성은 생명공학적으로 중요한 여러 독소와 펩티드 항생물질의 생성과 연관되어 있다. 바실러스의 영양세포(vegetative cells)는 주변의 물리적 및 화학적 환경요인이 성장하는데 불리하게 되면 내생포자로 변화하므로 내생포자는 열악한 환경조건에서도 생물체가 오랜 기간동안 살아 갈 수 있게 하는 휴면구조(dormant structure)이다.

#### (1) 형태

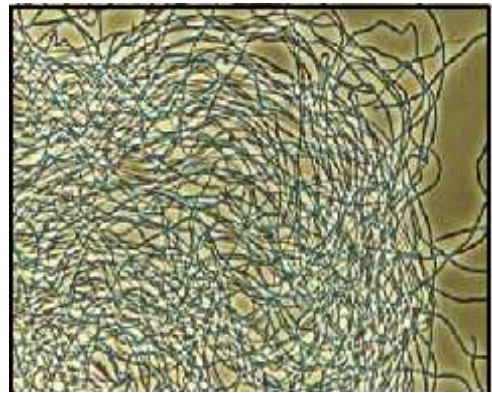
한천배지에서 배양된 바실러스 집단의 콜로니는 세포바깥으로 대량으로 분비되는 점액질의 세포외중합체(EPS, extracellular polymeric substances)로 인하여 대체로 다른 세균보다 크고 다양한 모양의 콜로니를 형성하기 때문에 쉽게 구별할 수 있다.

바실러스균은 양쪽 끝이 둥글거나 각이 진 막대기 모양의 간균(rod-shaped)으로서 크기는  $0.5 \sim 2.5 \times 1.2 \sim 10 \mu\text{m}$  정도이며 종종 세포가 쌍을 이루거나 사슬모양을 형성하기도 한다. 높은 C/N 비를 나타내는 고영양 조건에서 필라멘트를 형성하여 사상균으로 변하는 종류도 있다(Murakami 등, 1995)(그림 2-1-2). 그람양성을 나타내며 세포주위를 돌아가면서 일정 간격으로 나 있는 주모성 편모로서 운동한다.

해양이나 진흙에서 검출되는 바실러스균들은 종종 색깔을 띠는 있는데 대개 노랑, 분홍, 오렌지색을 띠고 있다.



<막대 모양 (간균, rod forms)>



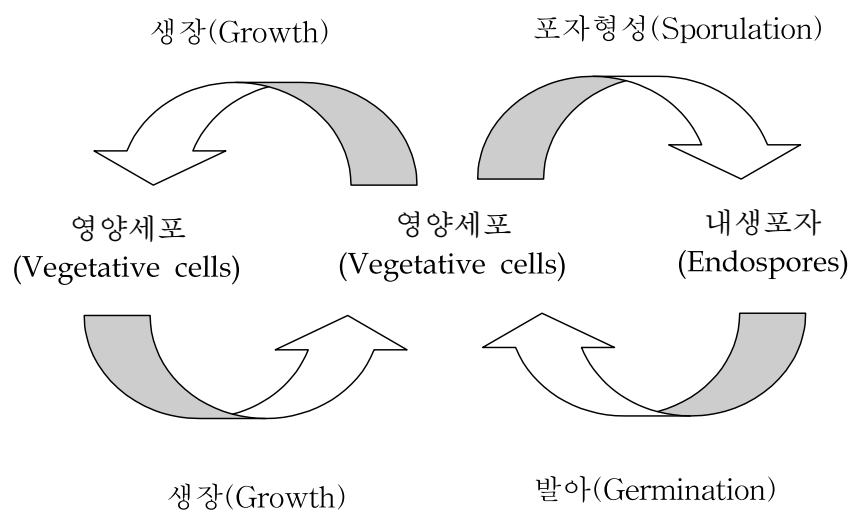
<실 모양 (사상균, filamentous forms)>

<그림 2-1-2> 광학현미경으로 본 바실러스의 전형적인 모양

## (2) 내생포자

영양세포는 주변 환경조건이 열악해지면 세포막이 함몰되고 그 주변에 두꺼운 포자껍질(spore coat)로 둘러싸임으로서 내생포자로 변한다. 포자는 1개의 영양세포에 1개씩 세포 안에 형성되며 대체로 난형이지만 때로는 구형 혹은 실린더 형일 때도 있다. 내생포자가 형성하는 열악한 환경조건 가운데 가장 중요한 것이 영양소 고갈이며 그밖에 고온, 건조, 동결, 방사선, 독성물질 등이 있다(Starr 등 1981).  $\text{SiO}_2$ 는 내생포자 형성에 필요한 미네랄로 알려졌다(Murakami 등, 1995).

열악한 환경조건이 바실러스균의 생장에 유리한 환경조건으로 바뀌면 내생포자는 발아(germination)하여 다시 영양세포로 변하게 된다(그림 2-1-3).



<그림 2-1-3> 바실러스균의 생활주기

### (3) 대사

산소를 최종전자수용체로 하는 호기성 호흡에 의하여 에너지를 얻는 절대호기성 세균(strictly aerobes)이 많기는 하지만 산소가 없는 환경에서도 발효나 혐기성 호흡에 의하여 에너지를 생성할 수 있는 통성혐기성인 종류(facultative anaerobes)도 있다.

바실러스균은 모두가 유기물을 기질로 하여 세포물질을 생합성하는 화학유기영양세균(chemoorganotroph)이며 대체로 catalase 양성을 나타낸다(Holt 등, 1994; Priest, 1993; Starr et al, 1981).

### (4) 생리활성물질의 생성

바실러스균은 아주 다양한 생리활성물질을 생성하며 그 가운데 많은 종류가 세포 바깥으로 분비되고 있다. 중요한 생리활성물질로는 효소(녹말분해효소, cellulase, 단백질분해효소, 지질분해효소, glucose isomerase), 펩티드(peptides) 항생물질(bacilysin, bacitracin, brevistin, fengycin, iturin, mycosubtilin, polymixin, polypeptin, subtilin, tridecaptin, tyrocidine)이 있다(Ferrari 등, 1993; Zuber 등, 1993).

### (5) 적정온도

바실러스균은 거의가 20-40℃의 상온에서 최적생장을 보이는 중온성 세균(mesophiles)이다. 그러나 중온성이지만 55℃에서도 생장할 수 있는 내열성(thermotolerant) 종도 확인되었으며, 일부 종은 65-75℃에서 생장이 가능한 반면 40℃ 미만에서는 자라지 못하는 고온성 세균(thermophiles)이었다. 중온성 세균 가운데 0℃의 저온에서도 생장하는 내한성(cold-tolerant) 세균 역시 확인되었다.

### (6) 병원성

대부분이 비병원성이며 병원균으로는 사람을 비롯한 포유동물의 탄저병 원인균인 *Bacillus anthracis*가 알려져 있다.

### 나. 하수처리에서의 이용

바실러스균은 많은 종류의 분해효소를 분비하기 때문에 하수에 포함된 각종 유



기오염물질과 냄새를 유발하는 황화수소나 암모니아와 같은 무기물과 아민(amines)과 같은 휘발성 유기물에 대한 분해능이 있으며, 동시에 분비하는 항생물질에 의하여 병원균이나 다른 미생물이 죽거나 생장이 저해된다. 그리고 탈질능력을 가진 바실러스균도 있어 하폐수 고도처리에 활용이 가능하다(Murakami 등, 1995).

#### 다. 분류

현재 미국 국립생명공학정보센터(NCBI, 2003)에는 바실러스 속에 모두 130종의 이름이 확인되어 있다. 가장 먼저 발견된 바실러스 종은 *Bacillus subtilis*(고초균)이며 산소이용여부, 대사특성, 내생포자와 같은 표현형적 특징에 따라서 6개 무리(group)와 미분류 무리로 나누는 것이 일반적이다(표 2-1-1)(Priest, 1993).

<표 2-1-1> 바실러스균의 분류

무리(Group)	특징(Characteristics)	종(Species)
Group I	-통성혐기성으로서 산소가 없는 환경에서도 잘 성장 -여러 종류의 당을 분해하여 산 생성 -내생포자는 타원형이며 모세포가 부풀어 오름	<i>Bacillus alvei</i> , <i>B. amylolyticus</i> , <i>B. apiarius</i> , <i>B. azotofixans</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. glucanolyticus</i> , <i>B. larvae</i> , <i>B. lautus</i> , <i>B. lentimorbus</i> , <i>B. macerans</i> , <i>B. macquariensis</i> , <i>B. pabuli</i> , <i>P. polymyxa</i> , <i>B. popilliae</i> , <i>B. psychrosaccharolyticus</i> , <i>B. pulvifaciens</i> , <i>B. thiaminolyticus</i> , <i>B. validus</i>
Group II	-포도당을 포함하는 여러 종류의 당을 발효하여 산 생성 -대부분의 종이 질산염이 존재하는 무산소 환경에서 느린 성장 -내생포자는 타원형이며 모세포가 부풀어 오르지 않음	<i>B. alcalophilus</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. anthracis</i> , <i>B. atrophaeus</i> , <i>B. carotarum</i> , <i>B. firmus</i> , <i>B. flexus</i> , <i>B. laterosporus</i> , <i>B. lentus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. niacini</i> , <i>B. pantothenicus</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. simplex</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. thuringiensis</i>
Group III	-절대호기성이므로 당을 발효하지 못하여 산을 생성못함(단 팔호안의 종은 발효능력이 있어 산 생성 가능) -타원형 내생포자이며 모세포가 부풀어 오름	<i>(B. alginolyticus)</i> , <i>B. aneurinolyticus</i> , <i>B. azotoformans</i> , <i>B. badius</i> , <i>B. brevis</i> , <i>(B. chondroitinus)</i> , <i>B. freudenreichii</i> , <i>B. gordonae</i>
Group IV	-구형 내생포자 형성하며 모세포가 부풀어 오를 수도 있음 -세포벽에 L-lysine이나 ornithine 함유 -절대호기성이기는 하지만 극히 일부 종은 당을 발효하여 산 생성 가능	<i>B. aminovorans</i> , <i>B. fusiformis</i> , <i>B. globisporus</i> , <i>B. insolitus</i> , <i>B. marinus</i> , <i>B. pasteurii</i> , <i>B. psychrophilus</i> , <i>B. sphaericus</i>
Group V	-50℃ 이상의 고온에서 잘 성장하는 고온성세균 -생리적으로나 형태적으로 매우 다양 -대부분은 난형 내생포자 형성하여 모세포가 부풀어 오름	<i>B. coagulans</i> , <i>B. flavothermus</i> , <i>B. kaustophilus</i> , <i>B. pallidus</i> , <i>B. schlegelii</i> , <i>B. smithii</i> , <i>B. stearothermophilus</i> , <i>B. thermocatenulatus</i> , <i>B. thermocloacae</i> , <i>B. thermodenitrificans</i> , <i>B. thermoglucosidasius</i> , <i>B. thermoleovorans</i> , <i>B. thermoruber</i> , <i>B. tusciae</i>
Group VI	-고온성 호산성 세균 -세포막에 $\omega$ -alicyclic 지방산 함유	<i>B. acidocaldarius</i> , <i>B. acidoterrestris</i> , <i>B. cycloheptanicus</i>
미분류		<i>B. benzoevorans</i> , <i>B. fastidiosus</i> , <i>B. naganoensis</i>

## 제2절 생물학적 고도처리공정

### 1. 고도처리공정의 종류

#### 가. 부유미생물 공법

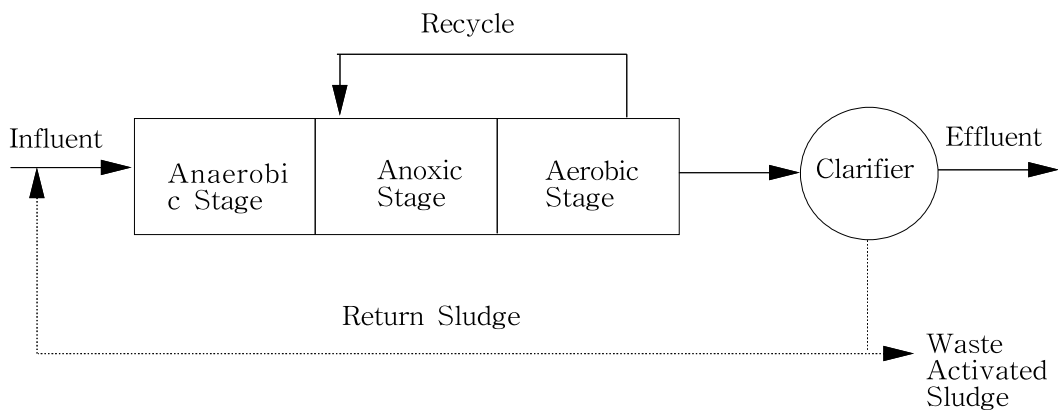
부유미생물 공법 중 대표적인 것으로 해외는  $A_2/O$ , Five-stage Bardenpho, UCT, VIP, SBR 등이 있으며 국내는 B3 SYSTEM, HBR-II 공법의 원리 및 실증 규모 처리장에서 운전 도중 발생되었던 현황들은 다음과 같다.

##### (1) $A_2/O$ 공법

미국의 Air Product & Chemicals 사에 의해 개발되었으며 흐름도는 <그림 2-2-1>과 같다. 혐기조에서는 2차 침전지의 반송슬러지와 유입 하·폐수가 혼합되어 미생물에 의한 유기물의 흡착이 일어나면서 인이 방출되며, 호기조에서는 유기물 분해 및 질산화가 일어남과 동시에 인의 과잉섭취가 일어난다.

F/M 비는  $0.15 \sim 0.25 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLVSS} \cdot \text{d}$  이고, SRT는 4~27일 정도로 운전된다. HRT는 혐기성조가 0.5~1.5시간, 무산소조가 0.5~1.0시간, 호기성조가 3.5~6.0시간이며 호기성조의 MLSS는  $3,000 \sim 5,000 \text{ mg} / \ell$  로 유지된다. 질소제거를 위해서는 호기성조의 포기액을 무산소조로 유입유량의 2배정도를 내부 반송시킨다.

인 제거율은 A/O 공정에 비해 떨어지나 질소 제거율은 40~70% 정도이며 T-P를  $1 \text{ mg} / \ell$  이하로 배출하려면 후단에 화학처리시설 및 모래여과시설을 추가로 설치해야 하며 온도의 영향이 커 동절기 운용 시에 많은 문제점이 있다.



<그림 2-2-1>  $A_2/O$  공법

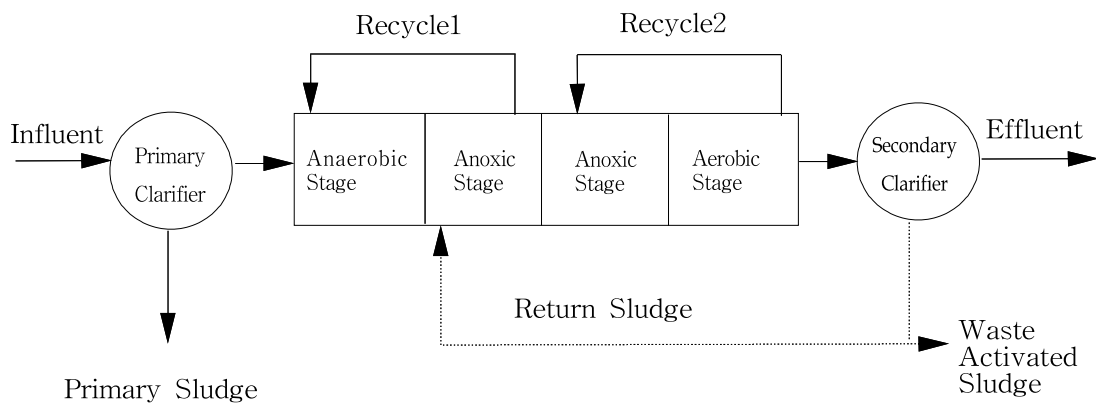
## (2) Five-stage Bardenpho 공법

남아공 Pretoria에서 개발된 Bardenpho 공법에 혐기조를 추가해 인을 제거할 수 있도록 만든 공정으로서 미국의 Eimco사가 상업화하였으며 흐름도는 <그림 2-2-2>과 같다.

혐기성조 및 호기성조에서는  $A_2/O$  공법과 마찬가지로 인의 방출 및 흡수가 일어나며 1차 무산소조에서는 호기성조에서 내부 반송된 유입 하·폐수 중의 용해성 유기물을 탄소원으로 하여 질소를 탈기시켜 제거한다. 2차 무산소조에서는 나머지 질산성질소를 미생물을 이용하여 제거하고 연속되는 재포기에 의하여 침전조에서 탈질에 의한 부상현상 및 인의 재방출을 막는다.

F/M비는  $0.1 \sim 0.2 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLVSS} \cdot \text{d}$  이고 SRT는 10~40일로 운전된다. 호기성조의 MLSS는  $2,000 \sim 4,000 \text{ mg} / \ell$  로 유지하며 인은  $3 \text{ mg} / \ell$  까지 제거된다.

T-P를  $1 \text{ mg} / \ell$  이하로 배출하기 위해서는 추가로 화학적 처리와 모래 여과시설을 해야 하며, 부지가 너무 많이 소요되는 단점이 있으며 실 규모처리 운전결과가 미국 내에 한정되어 있어 유입수의 성상이 다른 국가에서 적용하기에는 어려움이 있는 것으로 판단된다.



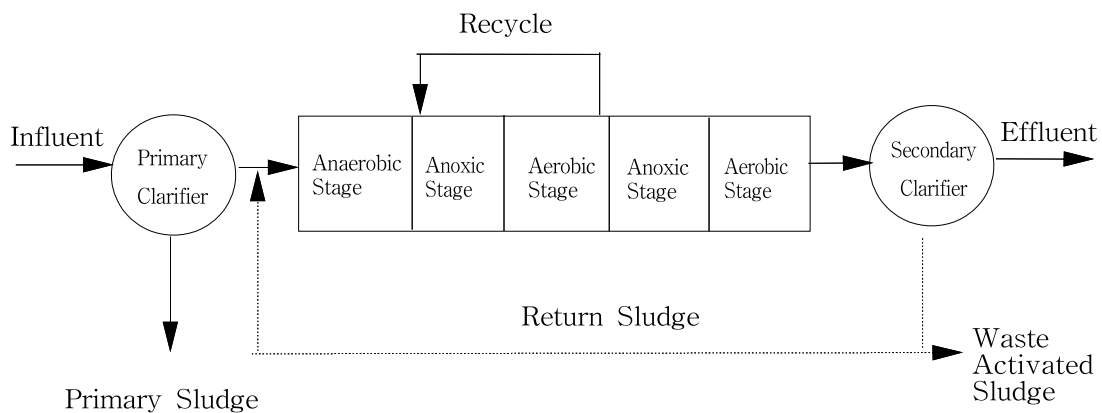
<그림 2-2-2> Five-stage Bardenpho 공법

## (3) UCT 공법

역시 남아공 Pretoria에서 개발된 Bardenpho 공법을 변형시켜 만든 공법으로서 남아공의 University of Capetown에서 개발하였으며 흐름도는 <그림 2-2-3>과 같다. 반송된 슬러지가 혐기성조 대신에 무산소조로 유입되어 혐기성조에서 미생물의

인 방출에 대한 질소산화물의 영향을 줄일 수 있다. 질소산화물이 혐기성조에 있으면 탈질균과 탈인균들 사이에 탄소원 섭취 경쟁을 하기 때문에 인 방출이 감소된다. 이를 보완하기 위하여 변형 UCT 공법은 두 개의 무산소조를 두어 첫 번째로는 반송슬러지의 질소산화물을 줄이고 두 번째로는 호기성조로부터 혼합물을 받아 공정 전체의 질소제거를 높이기 위해 설계되었다. F/M비는  $0.1 \sim 0.2 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLVSS} \cdot \text{d}$  이고 SRT는 10~30일 정도이고, 호기성조의 MLSS는  $2,000 \sim 4,000 \text{ mg} / \ell$  로 유지되며 HRT는 혐기성조가 1~2시간, 무산소조가 2~4시간, 호기성조가 2.5~4시간 정도이다.

본 공법은 남아프리카 이외의 지역에 설치하여 운전한 적이 없으며, 특히 온도에 영향을 많은 것으로 나타나 우리나라에 적용하는데는 문제점이 있다.

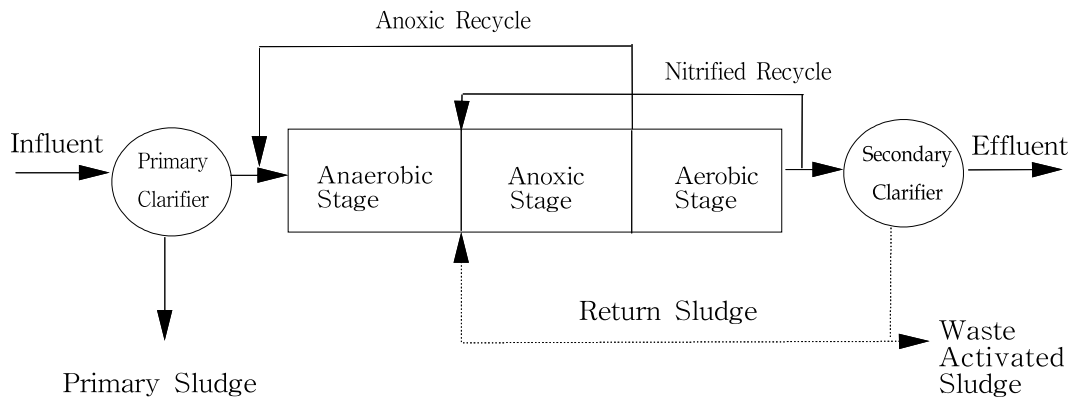


<그림 2-2-3> UCT 공법

#### (4) VIP 공법

UCT 공법과 유사하나 고효율의 운전을 위해 개발되었으며 흐름도는 <그림 2-2-4>과 같다. UCT는 HRT를 10~30일로 되어 있으나 VIP공법은 5~10일 정도 밖에 안 된다. 또한 활성슬러지의 양을 증가시켜 운전함으로서 인 제거 효율을 높이고 호기성조의 용량을 감소하는데 중점을 두었다. 혐기성조, 무산소조, 호기조를 각 조에 완전 혼합조를 2개 이상 직렬로 연결하여 plug-flow 특징을 적용할 수 있게 하였다. 따라서 호기성 조건의 완전 혼합조 중 첫 번째 호기성조에서 유기물의 잔류량이 증가되어 인 제거효율을 증대 시킬 수 있는 공법이다. 그러나 미국이외의 지역에 설치하여 운전한 결과가 거의 없으며, 저온에서 질소제거가 다른 공법에 비

하여 급격히 저하된다는 단점이 있어 우리나라에는 적당하지 않은 공법이다.

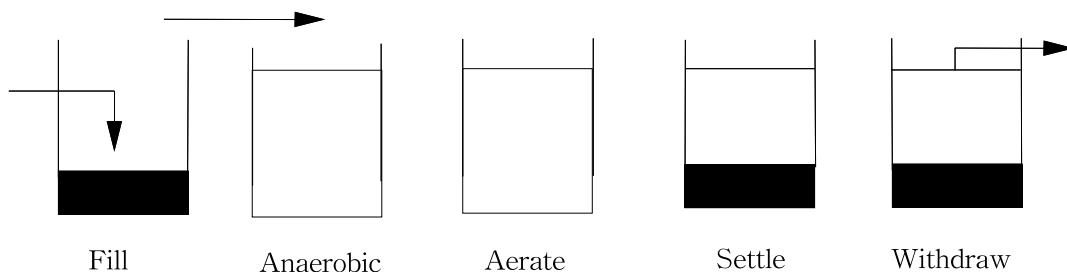


<그림 2-2-4> VIP 공법

#### (5) SBR 공법

혐기성·호기성 조건을 교환시켜 줌으로서 질소·인을 제거하는 공법인데 흐름도는 <그림 2-2-5>와 같다. 무산소 용존산소 결핍 시에 질산염이 제거되고, 혐기성 상태에서 인이 용출된 후 호기성 상태에 암모니아가 질산염으로 되며 인이 미생물에 의해 섭취되는 과정을 되풀이한다. 최종침전조와 반송펌프가 필요 없는 장점이 있으나 연속처리를 위해서는 2개조 이상이 필요하다. F/M비는  $0.03 \sim 0.18 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLVSS} \cdot \text{d}$  이고, SRT는 15~18일이고 HRT는 8~48시간이다.

본 공법은 운전이 어려워 고도의 기술을 요하며, 유입량이 적은 소규모 처리장에는 적용 가능하나 대량의 하·폐수 처리에는 적용 실적이 없으며, 유량 및 수질 등의 부하 변동에 매우 민감하다.

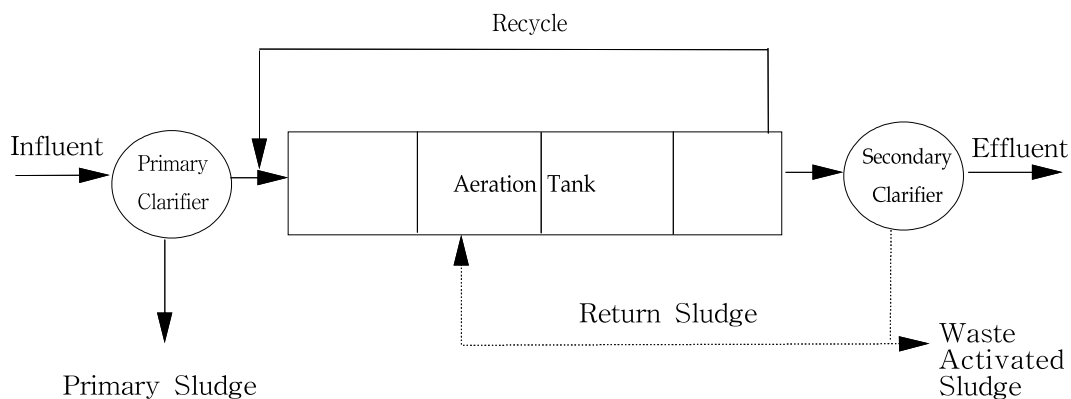


<그림 2-2-5> SBR 공법

#### (6) B3 SYSTEM

국내에서 개발된 공법으로서 바실러스균을 이용하며 흐름도는 <그림 2-2-6>과 같다. 4실로 구분된 포기조에서 제1실로부터 제4실까지 점감포기를 실시하여 바실러스균을 우점화함으로써 유기물 및 질소·인을 제거하는 공법이다.

F/M비는  $0.04 \sim 0.3 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLSS} \cdot \text{d}$  이고 SRT는 6~15일 정도이고, 포기조의 MLSS는  $2,000 \sim 4,000 \text{ mg} / \ell$  로 유지되며 HRT는 5~7시간 정도이다.

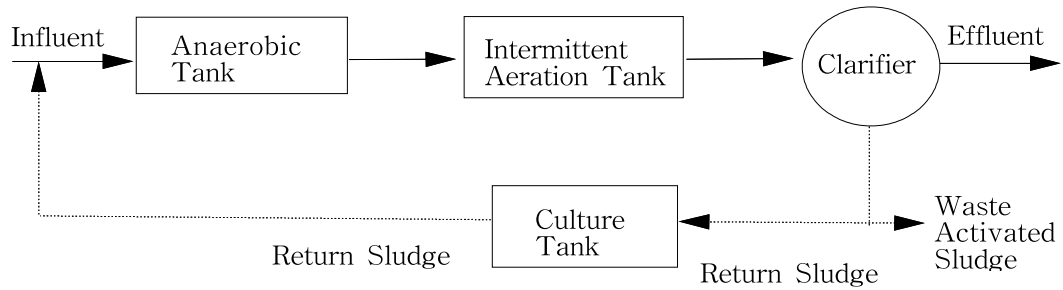


<그림 2-2-6> B3 SYSTEM 공법

#### (7) HBR-II

국내에서 개발된 공법으로서 흐름도는 <그림 2-2-7>과 같다. 생물반응조를 혐기/간헐포기/배양조로 구성하여 혐기조에서는 인 방출을 유도하고, 간헐포기조에서는 포기/비포기 주기를 적용하여 포기시 질산화와 인 과잉섭취, 비포기시 탈질화를 시켜 유기물 및 질소·인을 제거하고 배양조에 미생물활성제(Pellet/Stone)를 침지하여 저산소·저부하 조건의 슬러지를 혐기조로 순환시킴으로써 악취발생을 감소시키는 공법이다.

간헐포기조의 F/M비는  $0.1 \sim 0.3 \text{ kg} \cdot \text{BOD} / \text{kg} \cdot \text{MLVSS} \cdot \text{d}$  이고 SRT는 5~30일 정도이고, 혐기조 및 간헐포기조의 MLSS는  $2,500 \sim 5,000 \text{ mg} / \ell$ , 배양조의 MLSS는  $5,000 \sim 10,000 \text{ mg} / \ell$  로 유지되며 HRT는 혐기조 1~2시간, 간헐포기조 4~6시간, 배양조 24~48시간 정도이다.



<그림 2-2-7> HBR-Ⅱ 공법

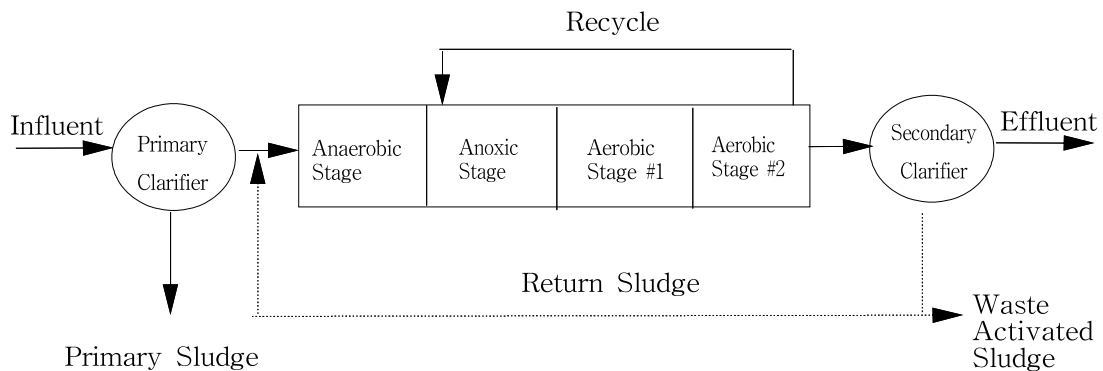
#### 나. 부착미생물 공법

부착 미생물 공법 중 대표적인 것으로 RBC, 살수여상, 접촉산화법 등이 있으나 이 공법들은 유기물 제거 목적으로 개발된 공법으로서 질소, 인 제거를 위한 고도처리공법에는 부합되지 않아 최근에 국내에서 개발된 포기조에 담체를 충전하는 부착 공법 중 대표적인 공법인 CNR PROCESS, BIO-SAC 공법의 원리에 대해 다음과 같다.

##### (1) CNR PROCESS

국내에서 개발된 공법으로서 흐름도는 <그림 2-2-8>과 같다. 생물반응조를 혐기·무산소·호기조로 분할하고 C/N비 조정을 위하여 유입수를 혐기조와 무산소조로 분할 공급하며, 호기조에 섬모상 담체를 충전하여 질산화 미생물을 고정시켜 유기물 및 질소·인을 제거하는 공법이다.

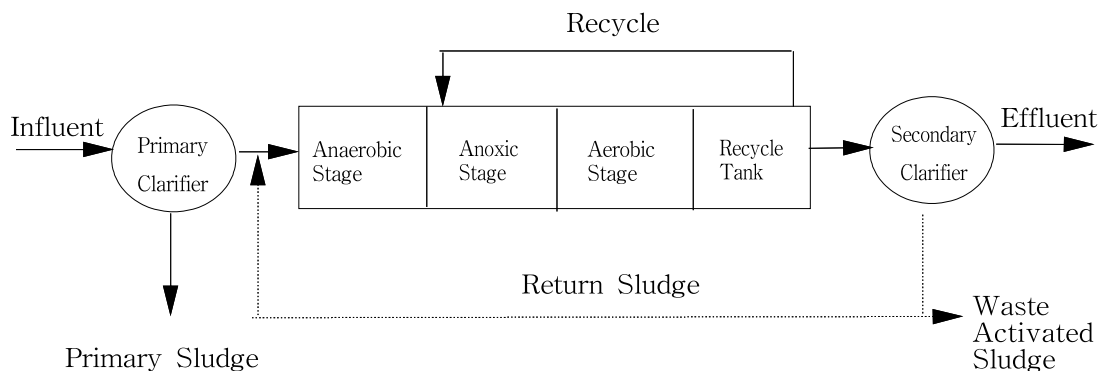
부착생장공정은 담체 표면에 생성된 생물막으로의 물질전달율(mass transfer rate)과 생물막을 형성하는 미생물의 기질 산화과정으로 나눌 수 있으며, 생물막을 구성하는 주요 미생물로는 세균, 균류, 조류, 원생동물 등이다.



<그림 2-2-8> CNR공법

## (2) Bio-SAC

국내에서 개발된 공법으로서 흐름도는 <그림 2-2-9>와 같다. 페타이어를 이용하여 만든 담체를 부피비로 10~20% 되도록 호기조에 충전하고 통상적인 포기장치로 공기를 공급하여 하·폐수에 들어 있는 유기성분 등을 생물학적으로 산화하여 처리하는 시스템이다. 하·폐수 중 유기물질을 산화하는 미생물은 담체의 표면에 부착하여 성장하는 생물막 미생물(부착미생물)과 혼합액 미생물(부유미생물)이 동시에 작용한다. 담체는 페타이어 분말과 합성수지 접착제를 주원료로 하여 입경 5~10mm의 입자로 성형한 후 표면에 미분말(微粉末) 활성탄(活性炭)을 발라 비표면적을 크게 함으로써 다양한 미생물 부착에 의한 생물막 형성이 잘 되도록 하여 초기에 생물막 형성을 촉진 시켜 주고, 유동시 표면의 생물막이 지속적으로 부착 탈리되어 적정한 생물막 두께를 유지할 수 있는 기술이다.



<그림 2-2-9> Bio-SAC법

## 2. 국내 적용사례

1996년 1월 1일부터는 질소와 인까지도 수질환경보전법의 하수처리장 및 분뇨, 축산폐수처리장 방류수 수질기준에 포함시켜 규제하고, 2002년 1월 1일부터는 더욱 강화된 방류수 수질기준으로 규제하고 있다. 이러한 일련의 정부의 하천의 수질보전 정책에 맞추어 전국의 하수처리장에서 앞에서 언급한 공법을 포함한 하수고도처리공법으로 이미 가동하고 있거나 또는 설계에 착수하고 있다. <표 2-2-1>은 전국 하수처리장에 적용 가동하고 있는 사례를 개략적으로 정리하였다.



<표 2-2-1> 고도처리공법 적용 하수종말처리장가동 현황

공법 지역	A <sub>2</sub> O	Five-stage Bardenpho	VIP	SBR	B3	HBR	기타
부산시							4
대구시	1						
광주시							1
경기도	1	1		6	1	2	5
강원도							1
충청북도							1
충청남도							1
전라남도				1			1
경상북도	1			5			2
경상남도			1				1
합 계	3	1	1	12	1	2	17

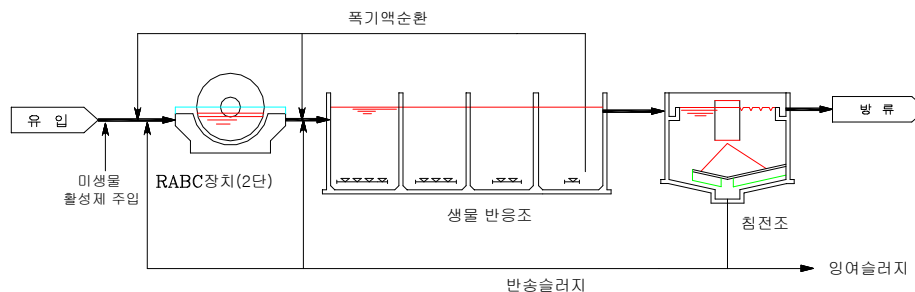
## 제3장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제1절 연구내용 및 방법

#### 1. RABC 공정

##### 가. 기본공정

망상형 회전식 바실러스 접촉장치(Rotating Activated Bacillus Contactor, 이하 RABC)를 이용한 본 공정은 기존의 회전원판법과 표준활성슬러지공법을 단순히 결합시킨 복합공법이 아닌, 바실러스균의 생물학적 특성과 망상형 담체의 특성을 잘 결합시킨 새로운 복합공법이다. <그림 3-1-1>은 RABC 하수처리공정도를 나타내었다.



<그림 3-1-1 RABC SYSTEM 처리공정도>

본 공정은 크게 전단의 RABC장치, 점감포기방식으로 운전되는 생물반응조, 침전지의 세부분으로 나눌 수 있으며, 장치내의 균체량을 조정하기 위한 포기액 순환 및 슬러지 반송과 유기물 부하에 따른 미생물활성제 투입을 주요 공정으로 채택하고 있다.

위의 공정도의 생물반응조에서 이루어지는 점감포기공정은 4조로 이루어진 생물반응조에서의 DO를 점감조절함으로써 이루어진다. 초단에서는 DO를 0.5~1.0mg/ℓ로 유지시키고 나머지에서는 0.1~0.3mg/ℓ의 낮은 DO조건을 유지시키면서 점감포기를 하며, 침전조에서 RABC 장치와 생물반응조 1조로 슬러지 반송과 생물반응조 4조에서 RABC 장치와 생물반응조 1조의 포기액 순환을 한다.

공정 구성의 원리상 회전원판법(RBC: Rotating Biological Contactor)과 구별되는 특징을 간략히 요약하면 다음과 같다.

① 타 공법과 달리 질소를 질산화를 시킨 다음 탈기하는 방식이 아니라 용존산소를 낮게 유지하면서 질소원을 직접 미생물이 섭취하여 제거함으로서 질소 제거율이 90%이상 이다.

② 인의 제거에 있어서도 타 공법에 있어서는 혐기나 무산소 상태에서 인 방출을 유도한 뒤 호기성 상태에서 과잉 섭취시켜 제거하는 방식이나 본 공법에서는 미생물이 가장 섭취하기 좋은 조건인 용존산소를 0.5mg/ℓ 정도를 유지케 하여 고농도로 유지되는 미생물에 의하여 섭취시켜 제거함으로서 인 제거율이 85%이상이 된다.

③ 바실러스 중 혼합균의 증식과정에서 생산되는 강력한 가수분해 효소인 catalase와 superoxide dismutase에 의하여 난분해성 유기물도 분해되어 미생물에 섭취되므로 유기물의 제거효율도 탁월하다.

④ 미호기성 상태에서만 이상 증식하는 바실러스균은 사상성 미생물이나 빈영양상태로 되면 포자를 형성하여 고·액 분리가 되므로 슬러지 팽화현상이 일어나지 않는다.

⑤ RABC장치는 고농도의 부착 미생물을 호기성상태로 유지시킬 수 있는 특수 망상형회전체로 구성되어 있으므로 유량 변동 및 유기물 부하에 적응하는 능력이 우수하며 바이오매스(biomass)가 두텁고 망상형에 부착되어 있어 저온에 대하여 저항성이 크다.

⑥ <그림 3-1-1>에서 보는 바와 같이 공정이 단순하여 설치 면적이 적게 소요되며, 시설 유지비가 적게 들며, 운전관리가 쉽다.

⑦ 바실러스 중 혼합균의 최적 성장 조건의 용존산소가 0.5~1.0mg/ℓ 이므로 타 공법에 비하여 동력비가 현저하게 적게 든다.

⑧ 바실러스 중 혼합균이 포자 형성 이전에 정지기 성장단계에 들어갈 때 바시트라신(bacitracin), 폴리믹신(polymyxin), 티로시딘(tyrocidine), 그라미디신

(gramidicin) 및 서브틸린(subtilin) 등의 항생물질을 분비하므로 처리수중에 생존하고 있는 대장균 및 일반세균 등을 용균 또는 사멸시키므로 별도의 소독시설이 없어도 된다.

⑨ 하·폐수에 함유되어 있는 아민기 및 암모니아, 암모늄염, 황화수소, 메르캅탄 등 악취 성분 등은 산화과정을 거치지 않고 고농도의 바실러스 종 혼합균에 의하여 직접 섭취되어 신진 대사가 이루어지므로 별도의 탈취시설이 필요 없다.

⑩ 고·액 분리가 양호하여 잉여슬러지 발생량이 적으며 탈수시 탈수효율이 양호하여 폴리머 소요량이 적고 발생하는 슬러지 케이크량이 타 공법에 비하여 20~30% 적다.

본 연구에 사용될 RABC의 개략적인 공정 구성 등의 설계 자료를 국내·외를 통하여 수집하고, 실험용 공정을 다단RABC + 생물반응조 + 침전조를 골격으로 구성하였다.

먼저 국내 및 일본의 오·폐수처리시설에서 망상형 회전식 바실러스 접촉장치(국내는 SEIL-BC로, 일본은 KL-BC로 상품화)에 대한 수질자료 등을 조사하여 BOD면적 부하량을 계산한 결과는 다음 <표 3-1-1>과 같다.

<표 3-1-1>의 BOD면적부하( $\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ ) 운전 자료로부터 알 수 있듯이, 가동 중인 실 플랜트의 BOD면적부하가 최소  $110\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ 에서 최대  $3,200\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ 라는 대단히 높은 부하에도 악취발생이 없고, 또한, 곳에 따라서는 높은 탈질 효과도 보이면서 성공적으로 가동되고 있었다. 이는 기존의 활성오니를 부착시키는 회전원판법의 BOD면적부하가 「하수도 시설기준」에서 보통(4단 평균)  $5 \sim 12\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$  (평균  $10\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ )를, 초단의 경우에는 최대  $40\text{g} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ 의 설계치가 사용되고 있는 사실로 볼 때, 최소 10배 내지 최대 300배의 BOD부하라는 실로 경이적인 실적이라 하기에 충분하다.

<표 3-1-1> RABC장치의 BOD 면적부하량 조사 결과

구 분	오 · 폐수처리시설명	폐수 종류	BOD면적부하 (kg · BOD/m <sup>2</sup> · day)	비 고
국 내	롯데제과(주) 평택공장	스낵, 초콜릿 폐수	0.62	ø2,000 1set 99.1 정상가동
	롯데햄 · 우유(주) 김천공장	돈육가공+돈도축폐수	1.55	ø2,000 3sets 지방,단백질다량 함유
	한국해양대학교	생활오수	0.25	ø2,000 1set 수세분뇨직유입
	롯데칠성음료(주) 안성공장	음료(당분) 폐수	0.42	ø2,000 4sets 2001,3 시운전
	롯데삼강(주) 영등포공장	아이스크림,유지 폐수	1.35	ø2,000 2sets 가압부상 전처리
	생곡매립지침출수처리 · 파일럿시설	쓰레기매립장 침출수	0.62~3.2	ø550 2sets
일 본	헬시푸드와타나베공장	낫또제조 폐수	0.11	KL-BC 30형
	大船軒(주)	도시락제조 폐수	0.15	KL-BC 24형
	NF프로우즌(주)	냉동도시락제조 폐수	0.50	KL-BC 24형
	(주)島海高原유스파크	유제품제조 폐수	0.52	KL-1012형

그 이유로 조사된 주요 사항은 아래와 같다.

① 기존의 RBC장치는 원판으로 단절된 상태에서 활성슬러지가 부착되는 일방향적인 장치인데 비하여, RABC에 쓰이는 망상형 회전식 담체(상품명: SARAN-ROCK)는 망상으로 된 두께 4cm의 두꺼운 담체 전부에 미생물이 부착 가능하여 부착 미생물의 양에서 월등히 RABC가 많다.

② RABC에는 미호기성/통성혐기성(microaerophilic/facultative anaerobic) 바실러스균들이 우점하고 있어, 설령 망상형 담체 내부에서 혐기성 분해가 일어나도 악취성분을 모두 섭취하므로 냄새 문제가 없다. 이는 일본에서 초기 SARAN-ROCK 담체를 이용하여 활성슬러지를 부착하여 하 · 폐수처리를 시도한 결과, 무엇보다 악취발생이 문제점으로 나타나 기술이 더 진전하지 못하였던 사례로 볼 때 기존의 RBC

와는 구별이 가능하다.

③ 기존 RBC생물막 공법에 비해, RABC 공법에는 악취 없이 다량의 활성 바실러스균을 내부에도 가질 수 있게 되므로 경이적인 BOD제거 능력을 보일 수 있으며, 만일 암모니아성 질소 부하가 높은 침출수 등도 중탄산염 등의 알칼리도가 높은 경우라면 망상형 담체 내부에 바실러스균과는 별도의 독립영양세균인 Anaerobic Ammonium Oxidation(ANAMMOX) bacteria가 서식 가능하여 유기물 없이도 매우 큰 탈질처리가 가능하다.

<표 3-1-2>는 파일럿 플랜트 RABC 장치 설계를 위하여 국내의 SEIL-BC 및 일본의 KL-BC공법 자료를 근거로 RABC SYSTEM의 단위 공정에 대하여 조사한 것이다.

<표 3-1-2> RABC SYSTEM의 단위공정에 대한 설계기준

단위 공정	설계 기준
RABC 장치 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 표면적당 부하</li> <li>- 접촉조 체류시간</li> <li>- 회전 속도</li> <li>- Biomass농도</li> </ul>	$0.4 \sim 0.8\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ $10 \sim 30\text{min}$ $3 \sim 12\text{rpm}$ $10,000 \sim 30,000 \text{ mg}/\ell$
생물반응조 <ul style="list-style-type: none"> <li>- BOD부하</li> <li>- F/M비</li> <li>- MLSS농도</li> <li>- 포기액 순환률</li> <li>- HRT</li> </ul>	$0.3 \sim 0.8\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ $0.01 \sim 0.15\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{KL} \cdot \text{MLSS} \cdot \text{day}$ $3,000 \sim 8,000 \text{ mg}/\ell$ RABC장치 순환 30~50% 생물반응조 1조 순환 30~50% $4.5 \sim 6.5 \text{ hr}$
침전지 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 수면적 부하</li> <li>- 슬러지 반송율</li> <li>- 슬러지 발생량</li> </ul>	$10 \sim 15 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ 생물반응조 50 ~ 100% RABC장치 30 ~ 50% 유량조정조 또는 전처리시설 5 ~ 7% 제거 BOD량의 10~20%

#### 나. 바실러스균의 우점화

바실러스균에 의한 우점화(predominance)를 판단하기 위하여 본 연구에서 설치한 파일럿 플랜트(Pilot plant) 및 실증 플랜트(Full-scale plant) RABC 공정의 생물막(biofilms), 포기조(생물반응조), 반송슬러지에서 서식하고 있는 바실러스균을 계수(enumeration)한 다음 배양가능한 호기성 종속영양세균(culturable aerobic heterotrophic bacteria)에서 바실러스균이 차지하는 비율(%)을 계산하였다. 바실러스균 및 종속영양세균의 배양과 계수법은 6. RABC 공정의 생물막 미생물의 특성에 설명되어 있다. 이와 동시에 현재 RABC 장치가 설치되어 가동하고 있는 하수 및 폐수처리장에서의 생물막, 농축슬러지, 탈수케이크(dewatered sludge cakes)와 바실러스균으로 우점화된 활성슬러지공정(B3 공정)의 탈수케이크, 반송슬러지에서의 바실러스균 수 및 비율도 확인하였다.

또한 RABC 공정의 바실러스균 우점화 정도를 간접적으로 평가하기 위해서 현재 가동 중인 전형적인 회전원판공정(RBC)의 생물막과 활성슬러지공정의 포기조의 바실러스균수를 세고 바실러스균 비율을 계산하여 RABC 공정과 비교하였다.

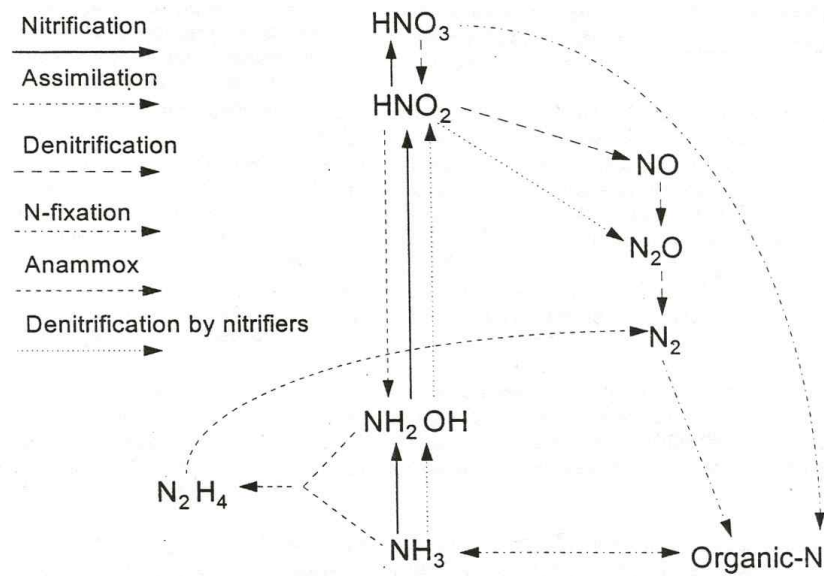
#### 다. 고도처리 메커니즘

##### (1) RABC SYSTEM에서의 질소 제거 메커니즘

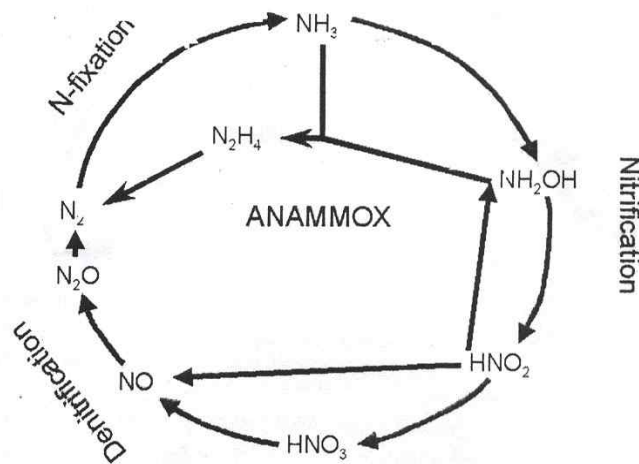
##### (가) 생물학적 하수처리에서 질소 순환을 다루는 모델

최근에는 새로운 미생물학적(microbial) 처리공정이 보고되고 있다. 예를 들면, 호기성 탈질과 종속영양 미생물에 의한 질산화(aerobic denitrification and heterotrophic nitrification), anaerobic ammonium oxidation-Anammox (Mulder 등, 1995), 또는 독립영양 질산화 박테리아(autotrophic nitrifying bacteria)에 의한 탈질 등이 그것이고 이러한 성질들을 가지고 폐수처리에 이용하고 있다.

<그림 3-1-2>와 <그림 3-1-3>은 일반적인 질소 순환과 Anammox process에서 가능성을 보여주는 질소순환을 도식화한 것이다.



<그림 3-1-2> 미생물에 의한 가능한 질소순환계  
(Van Loosdrecht 등, ' Microbiological conversions in nitrogen removal', 1998 )



<그림 3-1-3> Aammox 공정에서 제시된 질소순환계  
( Mark van Loosdrecht et al, 'Improving the sustainability of nitrogen removal', Water21 December 2001 )

○ 독립영양적 질소제거(Autotrophic Nitrogen removal)이론  
매립지 침출수(Landfill leachate)의 생물학적인 전처리를 RBC공정으로 한



Helmer 등(1999)의 연구에서 질소가 저농도의 용존산소 아래에서 60% 이상의 제거 효율을 가짐을 보여주었고, 반응조 내에서 아질산염(nitrite)의 축적이 없이 암모니아가 제거됨을 밝혔다. 시스템으로의 유입수 유기물질(organic substrate)이 적음에도 불구하고 이런 현상이 나오는 것은 일반적인 독립영양적 질산화(autotrophic nitrification)와 종속영양적 질산화(heterotrophic denitrification)로는 설명되어지지 않는 현상이다. 이에 그들의 연구에서는 그러한 메커니즘의 추적자로서 아질산염의 거동에 초점을 맞추어 위의 현상을 규명하고자 한 바 있다.

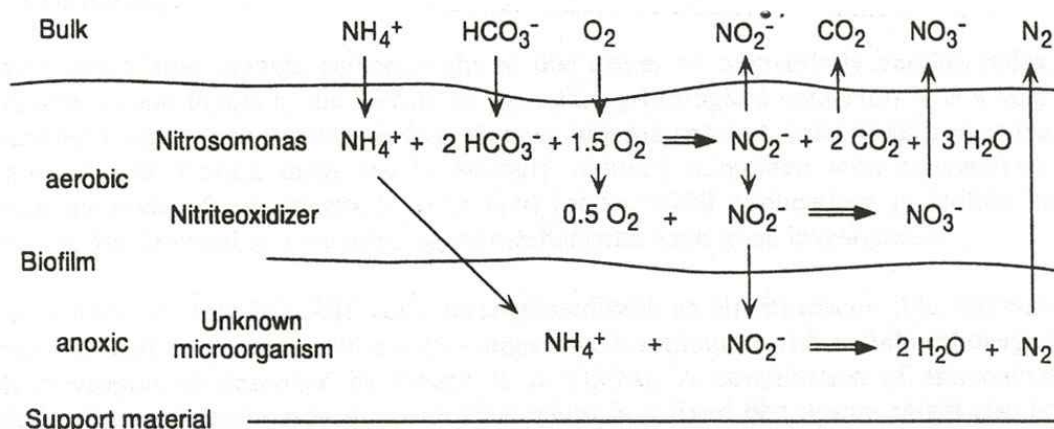
아질산염의 감소는 암모니아 산화와 강한 연관성을 가진다. 메커니즘은 아직 잘 알려져 있지 않지만 두 가지 가정을 갖고 질소제거 모델을 설명한다.

Model I: 표면(surface)에 가까운 생물막에서 생성되는 아질산염이 생물막 안쪽의 무산소(anoxic)층으로 확산되어 Anammox process와 유사하게 암모니아 산화가 이루어진다.

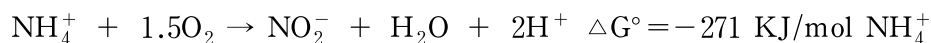
Model II: *Nitrosomonas*에 의해 생성된 아질산염이 히드록실아민(hydroxylamine,  $\text{NH}_2\text{OH}$ )의 산화과정 중에서 발생하는 환원 당량( reduction equivalents )에 의해서 감소한다.

다음은 위의 가정사항을 구체적인 화학식으로 접근하여, 유기 탄소의 주입이 없는 질소제거 메커니즘을 설명한다.

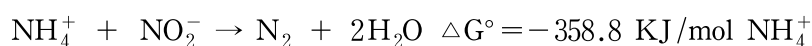
Model I: 표면에 가까운 호기성 상태의 생물막에서 일반적인 질산화 박테리아(*Nitrosomonas*)에 의해서 생성되는 아질산염이 생물막 안쪽의 무산소(anoxic)층으로 확산되어 암모니아가 아질산성 질소로 산화된다.



<그림 3-1-4> 가정 생물막 모델 (Helmer 등, 1999)



위의 과정을 통하여 생성된 아질산염이 생물막 안쪽의 무산소(anoxic)층으로 확산되어 Anammox process( van de Graaf 등, 1997)에서 묘사되었던 것처럼 암모니아 산화와 더불어 아질산염이 감소하게 된다.



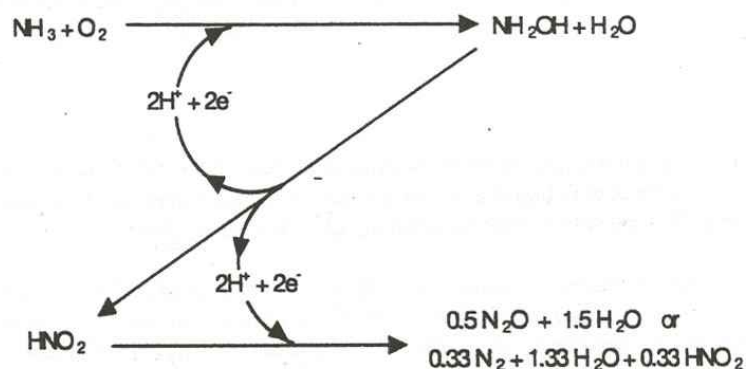
다음은 이 모델의 일반적인 특징이다.

- 생물막이 공기에 노출되면, *Nitrosomonas*는 암모니아를 아질산염으로 산화시키고, 생물막이 물에 잠기게 되면 산소가 소모되어 생물막 내부는 무산소(anoxic)상태가 되고 아질산염은 전자 수용체(electron acceptor)가 된다.
- 아질산염이 이 공정의 electron acceptor로 암모니아가 electron donor로 작용한다.
- 이러한 메커니즘은 오랜 적응기간이 필요하지 않고, 영양분공급의 변화에 대한 억제작용도 미세하다.
- *Nitrosomonas*의 효소시스템은 다양한 산화환원(redox) 상황에 빠르게 적응한다.
- 위의 공정에서 생산되는 에너지는 질산화 미생물들이  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  등과 같은 무기 탄소원으로부터 자신에게 필요한 유기물질을 합성하는데 사용하므로 질

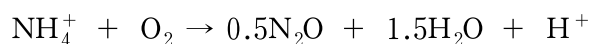
산화 자체가 미생물의 성장 등에 매우 중요한 역할을 하게 된다. ( WEF,1994 )

- 성장수율 및 생장률이 낮으므로 슬러지 발생량이 적어진다. (독립영양미생물의 일반적인 생장률은  $0.1 \sim 0.05 \text{ d}^{-1}$ 이다(van de Graff 등, 1997).

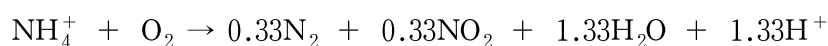
Model II: *Nitrosomonas*에 의해 생성된 아질산염이 히드록실아민(hydroxylamine- $\text{NH}_2\text{OH}$ )의 산화과정 중에서 발생하는 환원 당량(reduction equivalents)에 의해서 감소한다.



<그림 3-1-5> 가정 모델 (Helmer 등, 1999)



$$\Delta G^\circ = -264 \text{ KJ/mol NH}_4^+$$

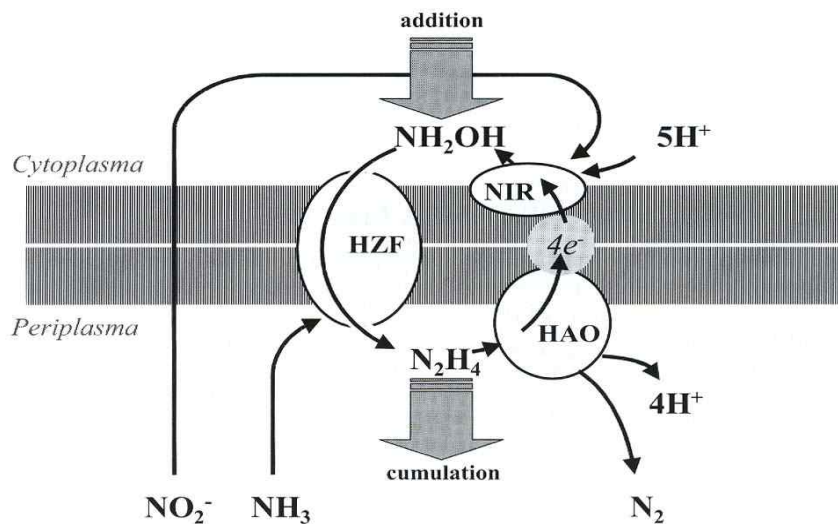


$$\Delta G^\circ = -264 \text{ KJ/mol NH}_4^+$$

(나) Anammox Process에서의 반응과 증명 사례

히드라진(Hydrazine,  $\text{N}_2\text{H}_4$ ) 은 Anammox 공정에서의 독특한 중간 생성물이다. 이 물질은 다른 어떤 생물학적인 공정에서는 형성되지 않는다고 알려져 있다. 어떤 시스템에서 히드록실아민(Hydroxylamine,  $\text{NH}_2\text{OH}$ )으로부터의 히드라진의 생성은 active Anammox biomass의 실체를 증명하는 수단이 된다. 호기성 암모니아 산화체는 산소가 충분할 때는 히드록실아민을 질산성질소(nitrate)로 변환시키고, 산소가 없는 상태에서는 산화질소(nitric oxide, NO)나 아산화질소(nitrous oxide,  $\text{N}_2\text{O}$ )로

변환시킨다. 그러나 산화질소나 아산화질소의 생성은 Anammox 공정보다 50배 이상 덜 발생하므로 무시할 만 하다.



<그림 3-1-6> Anammox process에서 추정되는 질소변환 메커니즘  
( LGJM van Dongen, MSM Jetten, MCM van Loosdrecht, 'The Combined Sharon/Anammox Process', IWA publishing, 2001 )

HAO = Hydroxylamine oxidoreductase ( 히드록실아민 산화-환원효소)

NIR = Nitrite reductase (질산염 환원효소)

HZF = Hydrazine forming enzyme ( 히드라진 형성 효소 )

Anammox biomass를 탐지하기 위해서 다음의 실험이 수행된다.

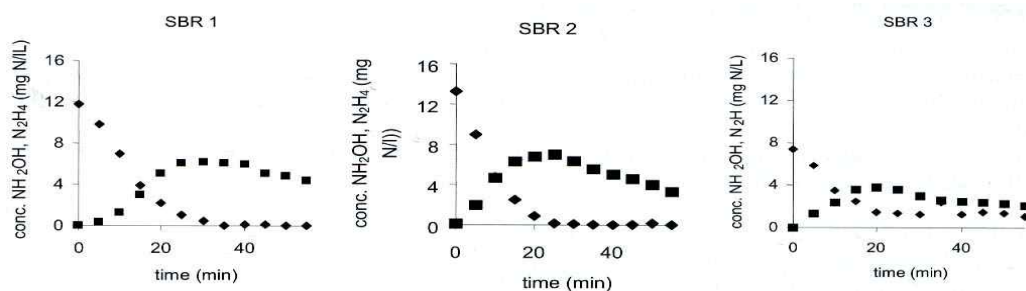
히드록실아민이 시스템으로 공급되었을 때, 효소 hydrazinase는 히드록실아민을 히드라진으로 변환시킨다. 이렇게 형성된 히드라진은 히드록실아민-산화환원효소(hydroxylamine-oxidoreductase, HAO)에 의해서 질소가스(nitrogen gas,  $N_2$ )로 변환되고, 그와 함께 네 개의 양성자(proton)와 전자(electron)가 방출된다.

이때 시스템에 존재하는 아질산염(nitrite)은 네 개의 전자와 반응하여 아질산염 환원 효소(enzyme nitrite reductase)에 의해 히드록실아민으로 변환된다. 이 때 시스템에서 아질산염이 부족하게 되면 전자는 다른 방식으로 반응하게 된다. 다음은 히드라진이 암모니아와 질소가스로 불균형적으로 변환되는 방식을 보여준다.



이러한 히드라진의 분해는 히드록실아민의 생성보다도 느리기 때문에 히드라진이 시스템 안에 축적되어지고, 히드라진은 암모니아와 질소가스로 분해된다.

Anammox bacteria가 시스템에서의 질소순환을 지배한다는 것을 증명하기 위하여 히드록실아민 용액을 반응조에 첨가하여 히드록실아민과 히드라진의 농도의 변화를 도시한다. <그림 3-1-7>은 위의 내용을 증명해주는 그래프이다.



<그림 3-1-7> 히드록실아민 발생량

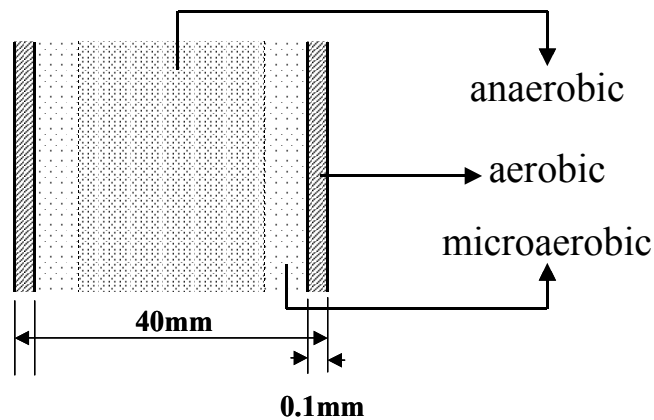
( LGJM van Dongen, MSM Jetten, MCM van Loosdrecht, 'The Combined Sharon/Anammox Process', IWA publishing, 2001 )

(◆ =  $\text{NH}_2\text{OH}$ , ■ =  $\text{N}_2\text{H}_4$ )

#### (다) RABC SYSTEM의 특성 및 바실러스균 분포

RABC 공정은 두께 약 4cm의 망상체에 바실러스균을 우점 부착시켜, 기존의 회전원판장치와 같이 하·폐수를 저속 회전(저농도 DO)시키는 장치를 주축으로 구성되어 있으며, 지금까지는 단단(Single-stage)으로 해서 기존의 활성슬러지법의 개량용으로 포기조 전단에 일종의 미생물 선택조(selector)역할을 겸하고 있지만, 단단임에도 불구하고 놀라운 유기물, 질소제거 효과를 실증적으로 나타내고 있다.

SEIL-BC(또는, 일본의 KL-BC) 장치와 같이 회전체 단면의 일반적 미생물 분포 상태를 도식화하면 <그림 3-1-8>과 같다.



<그림 3-1-8> RABC 생물막의 미생물 분포 모식도

바실러스균 우점화가 이루어진 정상 RABC 생물막에는

- 약간의 호기성세균(활성슬러지 세균)이 표면에 존재
- 상당히 많은 혐기성세균(활성슬러지 세균)은 내부에 존재
- 전역에 걸쳐 미호기성/통성혐기성 바실러스균이 우점화하는 것으로 예상된다.

(라) RABC SYSTEM에서의 질소 변환 모델의 기여도 예상

미생물의 세포탄소원으로 가장 흔한 2가지는 유기물과 탄산가스이다. 미생물이 세포합성을 위하여 유기탄소를 활용하는 경우 이를 종속영양미생물(유기영양 또는 타가영양미생물, heterotrophs)라 한다. 또 세포에 필요한 탄소를 탄산가스로부터 조달하는 경우에는 이를 독립영양미생물(무기영양 또는 자가영양미생물, autotrophs)라 한다. 탄산가스로부터 유기성 세포조직으로의 변환은 하나의 환원과정으로서 energy가 필요하다. 따라서 독립영양미생물은 종속영양미생물에 비하여 세포를 합성할 때 보다 많은 에너지가 필요하게 되므로 성장률이 낮아지게 된다.

앞의 RABC SYSTEM에서의 수질 자료는 유기물 및 질소부하 등이 낮은 일반 도시하수에 적용했을 때의 사례를 살펴보았다. 이와는 달리 침출수 등은 유기물에 비해 질소분의 비가 높아 낮은 C/N을 이루는 경우이고, 일반적인 종속영양적 질산화로의 질소제거를 기대할 수 없는 성상을 지니고 있다.

<표 3-1-3>은 바실러스균을 이용한 생곡의 침출수 RABC 파일럿 분석결과(PDI 자료)이다.

<표 3-1-3> 생곡의 침출수 RABC 파일럿분석결과(PDI자료)

(단위: mg/ℓ)

구분 \ 항목	BOD <sub>5</sub>		T-N		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	
	TBOD					
	유입수	유출수	유입수	유출수	유입수	유출수
최대	12805.0	453.0	2231.0	653.8	2000.0	466.9
최소	971.0	1.2	766	6.7	52.6	1.2
평균	4211.5	32.2	1527.2	151.9	1380.5	47.0
평균제거율(%)	99.2		90.1		96.6	
구분 \ 항목	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> - N		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N		알칼리도	
	유입수	유출수	유입수	유출수	유입수	유출수
	유입수	유출수	유입수	유출수	유입수	유출수
최대	4.6	38.1	34.6	575.9	12983.0	1604.0
최소	0.0	0.0	0.0	0.0	4579.0	26.2
평균	0.5	4.6	1.6	88.7	6994.3	1036.7
평균제거율(%)	-848.8		-5381.2		85.2	

※ 평균제거율(%)의 -는 증가율을 의미.

<표 3-1-3>의 자료를 살펴보면 유입원수의 성상이 유기물에 비해 질소분이 높고, 또한 유입 질소의 대부분을 암모니아성 질소가 차지하고 있음을 알 수 있다. 유입수의 부하가 높음에도 불구하고, 유출수와의 관계로부터 제시한 평균제거율이 90%를 상회하는 값을 나타내고 있다. 이는 일반적인 종속영양적 질산화만으로는 설명하기 어려운 질소제거 메커니즘이 있음을 의미한다. 마지막 항목으로 제시하고 있는 알칼리도에서도 알 수 있듯이, 처리공정에서 많은 양의 무기탄소원이 소모되고 있음을 알 수 있다. 또한, 대부분의 질산화 미생물을 독립영양형으로 분류를 하고 있는 것과는 상반되게 <표 3-1-3>에서의 자료에서 질소분의 제거에 대해 질산화의 양이 상대적으로 작은 값을 가짐을 알 수 있다. 이처럼 질소제거 메커니즘은 단순한 공정으로 진행되는 것이 아니라, 유입수의 성상 등 많은 외적 요인에 의하여 다양하게 진행된다.

일반적으로 미생물학적 질소변환(microbiological nitrogen conversion)은 기존의 독립영양세균에 의한 질화/종속영양세균에 의한 탈질 모델 이외에, 최근에는 유기물 농도가 질소보다 월등히 높은 경우에 한한 것이기는 하나, 독립영양 질산화균에 의한 탈질 및 종속영양세균에 의한 질산화와 호기성 탈질 모델이 제기 되었으며, 또

혐기성 상태에서 독립영양세균인 암모니아 산화균에 의한 탈질 모델이 제시되어 주목을 받고 있다.

RABC장치의 경우, 일반적으로는 기존의 질소변환 모델 및 최근의 질소변환 모델 모두가 작동될 수 있을 것이나, 공법의 특성상 다음 <표 3-1-4>에서와 같이 모델의 상대적 공헌도가 다르게 나타날 것으로 생각하고 있다.

<표 3-1-4> RABC에서의 질소 변환계 모델의 공헌도 비교

질소변환모델	예상기여도
Autotrophic Nitrification/ Heterotrophic Denitrification	조금
Denitrification by Autotrophic Nitrifiers	무시할 정도
Heterotrophic Nitrification/ Aerobic Denitrification	부분적으로 중요 (COD/N > 10)
Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX)	아주 중요

#### 라. 악취 제거

하수·분뇨처리장, 공장폐수 및 축산폐수처리장, 매립지 등 각종 환경기초시설로부터 석유 화학단지를 비롯한 각종 산업시설 그리고 농촌의 축사에 이르기까지 악취를 발생시키는 사업장은 우리 생활주변에 널리 분포되어 있다. 이에 따라 '96년과 '97년에 울산 및 여천공단지역이 대기질 규제지역 및 특별대책지역으로 지정되는 등 우리나라에서도 '90년대 초반부터 악취가 점차 사회적 환경문제로 대두되기 시작하였다. 정부는 이러한 악취문제 해결을 위해 8개의 화합물을 악취물질로 지정하고 배출허용기준을 설정하는 등 다각적으로 노력하고 있다.

<표 3-1-5>는 국내 악취물질 분석방법 및 배출허용기준을 나타낸다.

악취는 주로 질소와 황의 화합물에 기인한다. 그런데 바실러스균뿐만 아니라 모든 미생물은 6개의 주요한 성분(탄소, 질소, 황, 수소, 인 및 산소)들 중 전구대사산물에는 오직 두 개의 원소인 질소와 황만이 결여되어 있다. 따라서 이 성분들은 미생물의 생합성 경로를 통하여, 특정 반응의 결과로부터 세포의 구성물질로 전환되게 된다. 이들 두 원소들은 각각 환원된 형태로 생합성 대사과정에 들어간다. 즉,



질소는 암모니아( $\text{NH}_3$ )의 형태를 통하여 생합성에 이용되고, 황은 황화수소( $\text{H}_2\text{S}$ )의 형태를 갖게 된다. 또한, 다른 화학적 형태인 유기화합물의 구성물질로서 또는 산화상태의 무기물 형태( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ )로 이용되기도 한다.

<표 3-1-5> 국내 악취물질 분석방법 및 배출허용 기준

측정방법	배출허용기준		
직접 관능법	악취도 2도 이하		
공기회석관능법	가. 배출구 (1) 공업지역내의 사업장: 회석배율 1,000이하 (2) 기타지역내의 사업장: 회석배율 500이하		
	나. 부지경계선 (1) 공업지역내의 사업장: 회석배율 20이하 (2) 기타지역내의 사업장: 회석배율 15이하		
기기분석법	악취물질	공업지역의 사업장	기타지역의 사업장
	암모니아	2 ppm이하	1 ppm이하
	메틸메르캅탄	0.004 ppm이하	0.002 ppm이하
	황화수소	0.06 ppm이하	0.02 ppm이하
	황화메틸	0.05 ppm이하	0.01 ppm이하
	이황화메틸	0.03 ppm이하	0.009 ppm이하
	트리메틸아민	0.02 ppm이하	0.005 ppm이하
	아세트알데히드	0.1 ppm이하	0.05 ppm이하
	스티렌	0.8 ppm이하	0.4 ppm이하

※ 메틸메르캅탄은 유황계 악취물질임

아세트알데히드는 무기화학공업, 석유화학공업, 잉크제조공장, 도장공장, 제철공장등에서 발생, 스티렌은 Feather 처리장에서 발생

여기에서 본 공정에서 악취제거의 특징을 언급하면, 기존의 호기성 상태에서 하·폐수를 처리하는 기술들을 생물반응조의 용존산소를  $2.0\text{mg}/\ell$  이상으로 유지해야 함으로 하·폐수 중에 함유된 질소 및 황 성분은 질산염이나 황산염으로 산화된 상태에서 미생물이 이용하였기 때문에, 그 사이에 발생하는 악취를 별도로 처리해야 하는 어려움이 있었다. 그러나 본 공정에서는 용존산소가  $0.5\sim 1.0\text{mg}/\ell$  사이에서 운전되므로 질산화 및 황산화 미생물이 억제되어 질산화 및 황산화 과정이 이루어지지 않으면서, 동시에 이러한 조건에서 배양되는 바실러스균에 의하여 암모니아나 황화수소 등의 직접 이용을 통한 악취제거가 가능해진다.

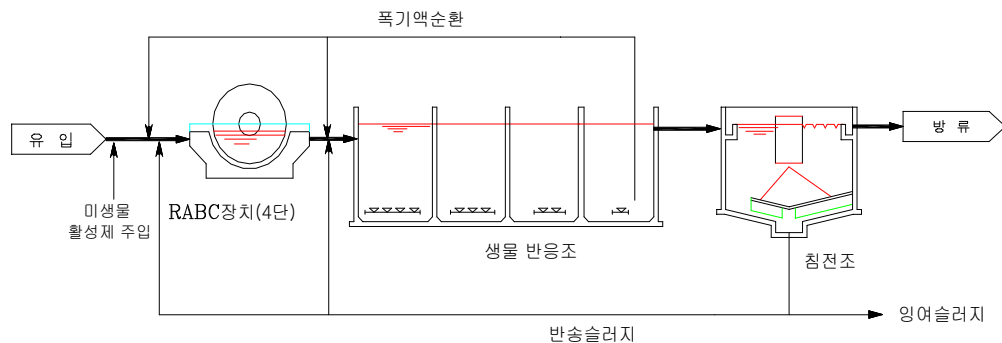
## 2. 파일럿 플랜트(Pilot plant) RABC 공정

### 가. 파일럿 플랜트 개요

<그림 3-1-9>는 1차년도 연구기간에 파일럿 규모로 운전한 RABC SYSTEM의 하수처리공정도를 나타내고 있고, <그림 3-1-10>은 난지하수처리사업소 내에 설치한 파일럿 플랜트 전경이다.

RABC 장치에서 일차적으로 처리된 하수는 역시 바실러스균 우점화되어 고농도로 유지되고 있는 생물반응조에서 다시 처리된다. 이 후 다른 공정이 없이 침전과정을 거쳐서 최종적으로 방류된다.

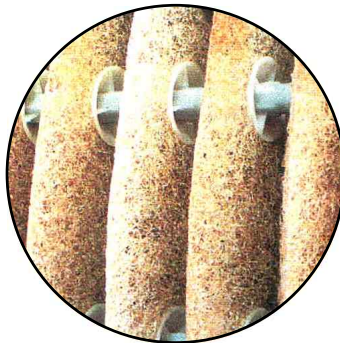
<그림 3-1-11>은 망상형 접촉체의 미생물 부착 전후의 사진이고, <그림 3-1-12>는 생물막이 형성된 RABC 장치를 찍은 사진이다.



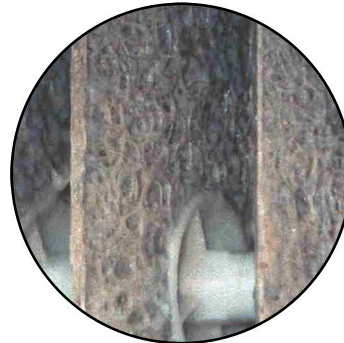
<그림 3-1-9 RABC SYSTEM 처리공정도>



<그림 3-1-10> 파일럿 플랜트 전경(난지 하수처리사업소 내)



<바실러스균의 부착전>



<바실러스균의 부착후>

<그림 3-1-11> RABC 망상형 접촉체의 표면 사진



<그림 3-1-12> RABC 장치의 미생물부착 모습

나. 파일럿 플랜트 설계기준 및 사양

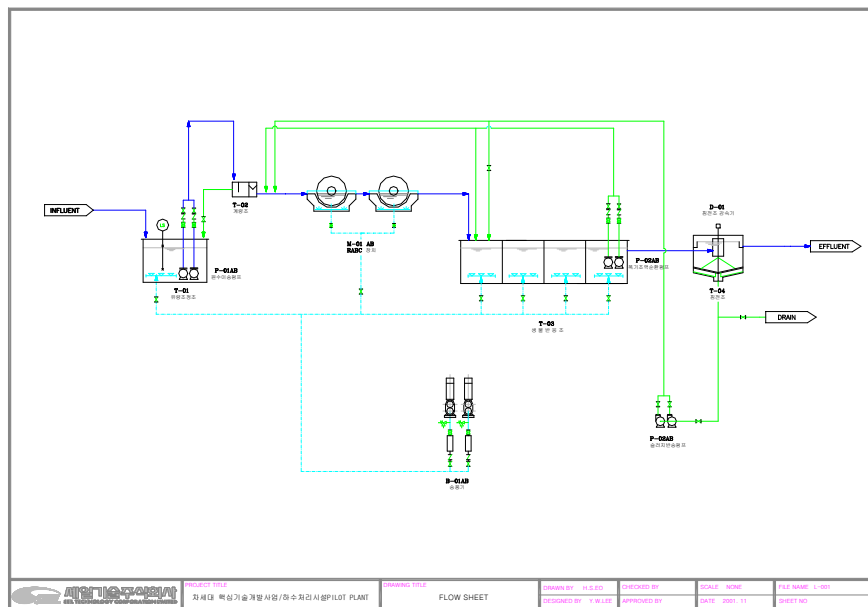
파일럿 플랜트 RABC 공정의 설계기준은 <표 3-1-6>에 나타내었다.

<표 3-1-6> 1차년도의 파일럿 플랜트 설계 기준

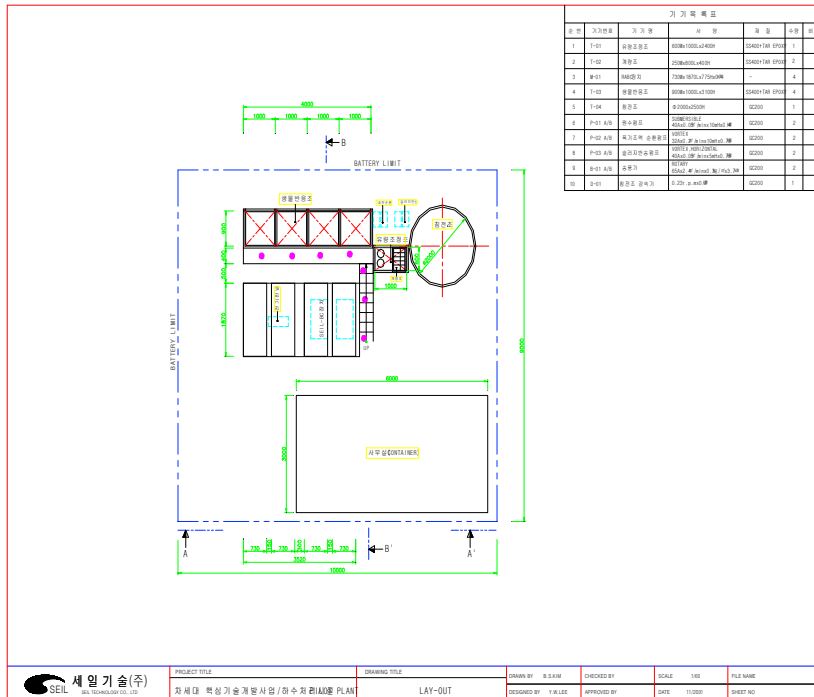
(단위: mg/ℓ)

구분	유입하수 농도 변동 폭	파일럿 플랜트 설계 목표수질	비 고
BOD <sub>5</sub>	90~200	10	대체적으로 낮은 유입부하를 가짐
T-N	20~30	10	
T-P	2~3	1	
SS	50~100	10	원수 유입구의 스크 린으로 인하여 적은 값을 유지

<그림 3-1-13>과 <그림 3-1-14>는 각각 파일럿 플랜트의 처리계통과 평면도이다.



<그림 3-1-13> 파일럿 플랜트의 처리계통도



<그림 3-1-14 > 파일럿 플랜트의 평면도

다음은 파일럿 플랜트의 설계제원에 관한 내용이다.

#### ① 유량조정조

- 수 량 : 1조
- 규 격 : 600W × 1,000L × 2,400H
- 유효용량 : 1.44 m<sup>3</sup>
- 체류시간 : 0.7시간
- 재 질 : SS400/Tar Epoxy
- 부대시설

#### ㉠ 원수펌프

- 수 량 : 2대(1대 예비)
- 용 량 : 0.05m<sup>3</sup>/min × 10mH × 0.4kw
- 형 식 : SUBMERSIBLE, Non-Clog Impeller type
- 재 질 : GC200

#### ㉡ 산 기 관

수 량 : 1식

형 식 : PIPE, HOLE

재 질 : PVC

㉔ 계 량 조

수 량 : 1대

형 식 : V - NOTCH

㉕ L/S

수 량 : 1대

형 식 : FLOATLESS

② RABC 장치

- 수 량 : 4대
- 규 격 :  $\varnothing 550 \times 12\text{매/대}$   
 $730\text{W} \times 1,870\text{L} \times 775\text{H}$
- 용 량 :  $3 \sim 12 \text{ rpm} \times 0.4 \text{ Kw}$
- 접촉조 유효용량 :  $168 \ell \times 4$
- 체류시간 :  $4.8\text{min} \times 4$

③ 생물반응조

- 수 량 : 4조
- 규 격 :  $900\text{W} \times 1000\text{L} \times 3,100\text{H}(2,900\text{He})$
- 유효용량 :  $10.4\text{m}^3$
- 체류시간 :  $5 \text{ hr}$
- 재 질 : SS400/Tar Epoxy
- 부대시설

㉖ 송 풍 기

수 량 : 2대(예비 1대)

용 량 :  $65\text{A} \times 2.4\text{m}^3/\text{min} \times 0.3 \text{ kg/cm}^3 \times 3.7 \text{ kw}$

형 식 : Rotary

재 질 : GC200

㉗ 포기액 순환펌프

수 량 : 2대 (예비 1대)

용 량 :  $32A \times 0.2\text{m}^3/\text{min} \times 10\text{mH} \times 0.75\text{kw}$

형 식 : Vortex, Horizontal

재 질 : GC200

㉔ 산 기 관

수 량 : 1식

형 식 : PIPE, HOLE

④ 침 전 조

- 수 량 : 1조
- 규 격 :  $2000\varnothing \times 2,500\text{He}$
- 유효용량 :  $7.85\text{m}^3$
- 체류시간 : 3.8 hr
- 수면적부하 :  $15.9\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$
- 재 질 : SS400/Tar Epoxy
- 부대시설 :

㉕ DRIVE UNIT

수 량 : 1대

용 량 :  $0.23 \text{ rpm} \times 0.2\text{kw}$

형 식 : 무단변속기

재 질 : GC200

㉖ 슬러지반송펌프

수 량 : 2대 (예비 1대)

용 량 :  $40A \times 0.05\text{m}^3/\text{min} \times 5\text{mH} \times 0.75\text{kw}$

형 식 : Vortex, Horizontal

재 질 : GC200

<표 3-1-7>은 구조물 및 기기 목록을 나타낸다.

<표 3-1-7> 구조물 및 기기 목록

NO	명칭	사 양	수량	재질	비 고
1	유량조정조	600W×1,000L×2,400H	1	SS400	
2	계량조	250W×800L×400H	2	SS400	
3	생물반응조	900W×1,000L×3,100H	4	SS400	
4	침전조	φ2,00×2,500H	4	SS400	
5	RABC 장치	730W×1,870L×775H×0.4kW	4		
6	원수펌프	40 <sup>A</sup> ×0.05m <sup>3</sup> /min×10mH×0.4kW Submersible	2	GC200	
7	포기액순환펌프	32 <sup>A</sup> ×0.2m <sup>3</sup> /min×10mH×0.75kW Vortex	2	GC200	
8	슬러지반송펌프	40 <sup>A</sup> ×0.05m <sup>3</sup> /min×10mH×0.75kW Vortex	2	GC200	
9	송풍기	65 <sup>A</sup> ×2.4m <sup>3</sup> /min×0.3kg/cm <sup>2</sup> ×3.7kW Rotary	2	GC200	
10	침전조 감속기	0.23rpm×0.2kW	1	GC200	

다음은 현장의 소요 부지 면적을 나타내었다

4.0mW × 10.0mL = 40m<sup>2</sup>(PILOT PLANT 소요 실면적)

9.0mW × 10.0mL = 90m<sup>2</sup>(PILOT PLANT 및 사무실(CONTAINER) 포함 면적)

<표 3-1-8>은 전력사용량 및 용수사용량을 나타낸다.

<표 3-1-8> 전력사용량 및 용수사용량

NO	명칭	수량	가동 대수	동력 (kW)	가동시간 (hr)	소요동력 (kW/h)	비 고
1	RABC장치	4	4	0.4	24	38.4	
2	원수펌프	2	1	0.4	24	9.6	
3	포기액순환펌프	2	1	0.75	24	18.0	
4	슬러지반송펌프	2	1	0.75	24	18.0	
5	송풍기	2	1	3.7	24	88.8	
6	침전조 감속기	1	1	0.2	24	4.8	
7	기 타					10	
	합 계			6.2		187.6	



- 용수사용량

$$10\text{m}^3/\text{월} \times 19\text{월} = 190\text{m}^3$$

다. 파일럿 플랜트 운전관리

(1) 종균 접종

- 종균은 약 70~80℃ 정도의 온수에 풀어서 제1 반응조에 일시에 투입한다.

(2) 공기주입

- 제1 반응조에 전체 공기량의 70~80% 정도를 주입한다.
- 제2, 제3, 제4 반응조에 전체 공기량의 20~30%를 나누어 주입한다.

(3) 용존산소 및 ORP

- 용존산소는 0.5~1.0mg/ℓ를 유지토록 한다.
- ORP는 200~250mV를 유지토록 한다.

(4) 약품투입

- 미생물활성제 0.02kg/kgBOD day를 생물반응조 1단에 투입한다.

(유입수의 BOD부하량이 변화하기는 하지만 일일의 BOD농도를 100mg/ℓ로 유입되는 것으로 산정하면 일일 BOD부하량은 5kg · BOD/day (유량 50 m<sup>3</sup>/day)이다. 이러한 결과로써 100g/day로 생물반응조 1단에 투입하고 있다. )

(5) 바실러스 중 혼합균 순양

- 바실러스 중 혼합균 포자를 발아시키려면 Seeding후 약 24시간 정도 유입, 유출수가 없는 상태에서 포기를 계속하면서 침전조에서 슬러지를 반송시킨다.
- 생물반응조의 MLSS 농도는 3,000mg/ℓ 정도를 유지시키며 그 이상일 경우는 잉여슬러지로 빼낸다.

(6) 슬러지의 반송

- 침전조에서의 반송은 유입량에 대하여 100% 정도로 한다.
- SV<sub>30</sub>의 측정, 침강성 및 MLSS 상태, 바실러스 중 혼합균의 상을 관찰하면서 슬러지 반송량을 조절한다.

(7) 화상 SYSTEM 활용

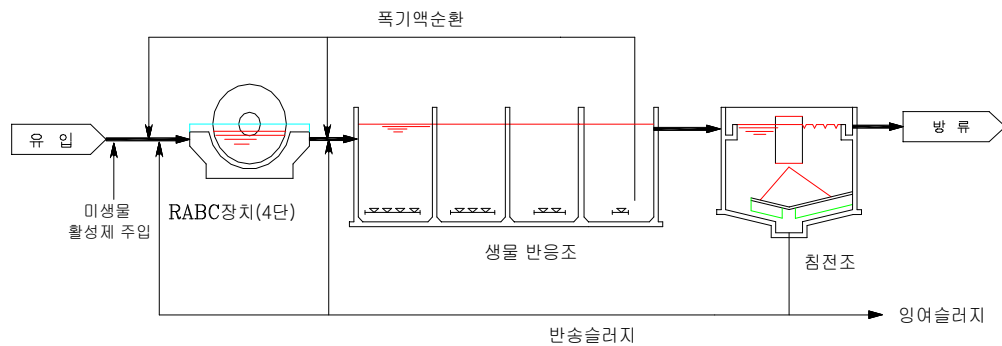
- 생물반응조 1조, 4조의 액과 침전조에서 반송되는 슬러지를 Sampling하여 오전 9시와 오후 5시경 최소한 1일 2회 이상 미생물상을 관찰(바실러스 중 혼합균, 기타 미생물상, 원생동물, Floc, 섬유상 등)하면서 포기량, 반송량, 약품

투입량, MLSS 등을 관리한다.

### 3. 실증 플랜트(Full-scale plant) RABC 공정

#### 가. 실증 플랜트 개요

<그림 3-1-15>는 일최대 300m<sup>3</sup>/일 처리용량을 갖춘 실증 규모로 운전되고 있는 RABC SYSTEM의 하수처리공정도를 나타낸 것이다. <그림 3-1-16>은 평택시 통북 하수처리장내에 설치되어 있는 실증 플랜트 전경이다.



<그림 3-1-15> RABC SYSTEM 하수처리공정도



<그림 3-1-16> 실증 플랜트 전경(평택시 통북 하수처리장내)

#### 나. 실증 플랜트 설계기준 및 사양

본 연구에 사용된 RABC의 설계기준을 <표 3-1-9>에 나타내었다.

<표 3-1-9> 2차년도의 실증 플랜트 설계 기준 (단위: mg/ℓ)

구분	평균 원수 농도	실증 플랜트 설계 목표 수질(2차년도)	비 고
BOD <sub>5</sub>	130	5	
T-N	30	5	
T-P	5	0.5	
SS	125	10	

다음은 실증 플랜트의 설계제원에 관한 내용이다.

##### (1) 원수펌프

수 량 : 2대(1대 예비)

용 량 :  $0.23\text{m}^3/\text{min} \times 15\text{mH} \times 1.5\text{Kw}$

형 식 : Submersible

재 질 : GC200

(2) RABC 장치

수 량 : 2단

규 격 : 2,400W × 4,125L × 2,500H

부대시설 : 1) 계량조

수 량 : 1조

용 량 : 40m<sup>3</sup>/hr

형 식 : V-NOTCH

재 질 : SS400

(3) 생물반응조

수 량 : 4조

규 격 : 2,200W × 3,100L × 2,800H

유효높이 : 2.5m

유효용량 : 68.2m<sup>3</sup>

체류시간 : 5.4hr

재 질 : SS400

부대시설 : ① 송풍기

수 량 : 2대(1대 예비)

용 량 : 1.5m<sup>3</sup>/min × 0.3kg/cm<sup>2</sup> × 3.7Kw

형 식 : ROTARY

재 질 : GC200

② 산기관

수 량 : 26개

용 량 : 0.1m<sup>3</sup>/min

형 식 : Ball

재 질 : PP / RUBBER

③ 포기액순환펌프

수 량 : 2대(1대 예비)

용 량 : 0.22m<sup>3</sup>/min × 10mH × 2.2Kw

형 식 : VORTEX & HORIZONTAL

재 질 : GC200

(4) 침 전 조

수 량 : 1조

규 격 :  $\Phi 4,400 \times 4,000H$

수면적부하 :  $19.7m^3/m^2 \cdot d$

유효높이 : 3.5m

유효용량 :  $53.2m^3$

체류시간 : 4.3hr

재 질 : SS400

부대시설 : ① 구동시설

수 량 : 1대

용 량 :  $0.1rpm \times 0.4Kw$

형 식 : CYCLO

재 질 : GC200

② 반송슬러지펌프

수 량 : 2대(1대 예비)

용 량 :  $0.22m^3/min \times 10mH \times 2.2Kw$

형 식 : VORTEX & HORIZONTAL

재 질 : GC200

<표 3-1-10>은 구조물 및 기기 목록을 나타낸다.

<표 3-1-10> 구조물 및 기기 목록

NO	명칭	사 양	수량	재질	비 고
1	계량조	$40m^3/hr$ , V-Notch	1	SS400	
2	생물반응조	$2,200W \times 3,100L \times 2,800H(2,500He)$	4	SS400	
3	침전조	$\Phi 4,400 \times 4,000H(3,500He)$	1	SS400	
4	RABC 장치	$2,400W \times 4,125L \times 2,500H \times 2.2kW$	2		
5	원수펌프	$0.23m^3/min \times 15mH \times 1.5kW$ Submersible	2	GC200	
6	포기액순환펌프	$0.22m^3/min \times 10mH \times 2.2kW$	2	GC200	

		Vortex & Horizontal			
7	슬러지반송펌프	0.22m <sup>3</sup> /min×10mH×2.2kW Vortex & Horizontal	2	GC200	
8	송풍기	1.5m <sup>3</sup> /min×0.3kg/cm <sup>2</sup> ×3.7kW Rotary	2	GC200	

#### 다. 실증 플랜트 운전관리

##### (1) 종균 접종

- 종균제를 생물반응조에 투입하여 원수 유입 없이 일정기간 포기를 하고 RABC 장치로 순환시켜 망상형 회전 바실러스 접촉장치(RABC 장치)에 부착을 유도한다.

##### (2) 공기주입

- 생물반응조 1조에 공기량은 DO 1.0mg/ℓ 정도가 되도록 주입한다.
- 생물반응조 2조에 공기량은 DO 0.5~1.0mg/ℓ 정도가 되도록 주입한다.
- 생물반응조 3조에 공기량은 DO 0.3~0.5mg/ℓ 정도가 되도록 주입한다.
- 생물반응조 4조에 공기량은 DO 0.1~0.2mg/ℓ 정도가 되도록 주입한다.
- ※ 공기주입은 유입원수 농도와 생물반응조 MLSS 농도에 따라 다소 가변적으로 운전함.

##### (3) 미생물 활성제의 투입

- 미생물 활성제 0.02kg/kg BOD·day 비율로 계량조에 투입한다.

##### (4) 생물반응조의 MLSS 농도 유지

- 생물반응조(1조~4조)의 MLSS 농도는 3,000~4,000mg/ℓ 정도를 유지시키며 그 이상일 경우는 잉여 슬러지를 인발한다. (동결기 수온 변화시 MLSS 농도를 다소 높게 운전함)

##### (5) 슬러지의 반송

- 침전조에서의 반송은 유입량에 대하여 50~100% 정도로 한다.
- SV의 측정, 침강성 및 MLSS상태, 바실러스 종 혼합균의 상을 관찰하면서 슬러지의 반송량을 조절한다.

##### (6) 화상 시스템의 활용

- 생물반응조 1~4조의 포기액과 침전조에서 반송되는 슬러지를 Sampling 하여 일일 1회 이상 미생물상을 관찰 (바실러스 종 혼합균, 기타 미생물, 원생동물, Floc, 섬유상 등)하면서 포기량, 반송량, MLSS 등을 관리한다

(7) RABC 장치 유지관리

RABC 장치 전단 계량조에 생물반응조 마지막 조에서 포기액 순환펌프로 포기액을 유입 원수량 대비 50~100%정도를 유입하고, 30~50% 정도로 반송슬러지를 유입하여 바실러스균이 RABC 장치에 부착되도록 유도한다. 정상적으로 부착정상운전 개시 후 2~3주 정도 지나면 미생물이 부착된다. 수량 및 유입수질 부하변동이 심할 경우에는 RABC 장치로의 유입수를 조정하여 운전한다.

(8) 생물반응조 유지관리

본 공법에서의 공기량 조정은 생물반응조 제1조 전체 공기량의 50~70% 정도로 포기하고 제2~4조는 30~50%로 점감포기를 하는 것으로 되어 있으나 화상시스템에 의하여 관찰된 미생물군의 상태에 따라 공기량을 조절한다. 각 조의 DO는 제1조의 경우 1.0mg/ℓ, 제2조는 0.5~1.0mg/ℓ, 제3조는 0.3~0.5mg/ℓ, 제4조는 0.1~0.2mg/ℓ 정도로 조절하여 운전하며 원수의 유입 성상과 생물반응조의 미생물 상태에 따라 다소 가변적으로 공기량을 조절하여 DO를 유지한다. 적정 MLSS농도는 슬러지 반송량으로 조절한다.

라. 실증 플랜트 운전경과

(1) 종균 접종

2002년 6월 21일 종균(탈수 케이크) 400kg을 생물반응조 1조에 용해 후 투입, 포자를 발아시키기 위해 원수 주입 없이 공폭 운전을 하였다.

(2) 원수의 단계별 유입

구분	1단계	2단계	3단계	4단계
일자	02. 06. 21 ~ 06. 23	02. 06. 24 ~ 07. 01	02. 07. 02 ~ 10. 04	02. 10. 05 ~ 현재
유입량 (m <sup>3</sup> /일)	-	150	300	300

(3) RABC 장치

회전수 3~12rpm으로 RABC 장치를 회전시키면서 배양한 결과 7일 후에 정상적으로 바실러스균이 부착, 생장하기 시작하였다. 위상차 현미경의 결과에 의하면 접촉체에 부착된 바실러스균은 안정적으로 대수생장을 하면서 증식

이 빠르게 진행되었다.

(4) 포기액순환

생물반응조 4조에서 바실러스 중 혼합균은 유기물 및 영양물질의 빈영양상태로 인해 생존을 위해 포자로 형성된다. 이때 포기액 RABC 장치와 생물반응조 1조로 순환 시켜 줌으로써 포자로 형성된 바실러스 중 혼합균은 발아 후 분열을 계속하면서 필라멘트를 형성하고 성장하기 시작하여 유기물질과 영양물질 등을 분해 섭취하게 된다. 포기액 순환은 0.3~1.0Q 정도로 계량조 및 생물반응조 1조로 순환 운전하였음. 유입원수와 생물반응조의 상태에 따라 가변적으로 순환 운전을 함.

(5) 슬러지 반송

침전조에서 슬러지 반송은 유입량 대비 0.3~1.0Q 정도로 계량조 및 생물반응조 1조로 반송 운전하였음. 생물반응조 MLSS 농도와 RABC 장치 부착상태로 가변적으로 운전을 함.

(6) RABC 장치에 부착 바실러스균 상태

RABC 장치에 부착 미생물의 상태는 종균 접종 후 7일 경과 후부터 바실러스균이 안정적으로 부착되기 시작하여 20일 후에는 접촉체 전체에 골고루 약 2~3mm 정도의 두께의 미생물 층이 형성되었으며, 원생동물은 관찰되지 않았고, 필라멘트, 포자 및 발아상태의 바실러스균이 활발하게 증식되고 있었다.

(7) 생물반응조에서의 바실러스균 상태

원수 유입 10일 경과시 바실러스균의 증식 및 발아가 진행되고 있었으며, 원생동물인 *Vorticella*, *Epistylis*, *Opercularia* 등이 공존함을 현미경으로 볼 수 있었다. DO는 생물반응조 1조 1.0mg/ℓ, 2조는 0.5~1.0mg/ℓ, 3조는 0.3~0.5mg/ℓ, 4조는 0.1~0.2mg/ℓ 정도로 유지하며 MLSS농도는 2,500~3,500mg/ℓ 정도로 유지하여 미생물의 상태를 검경하며 공기량, 포기액 순환량 및 슬러지 반송량을 조절하였다.

#### 4. RABC 공정의 생물막 미생물의 특성

##### 가. 생물막 미생물의 수와 종류



본 연구과제에서 설치한 파일럿 및 실증 플랜트 RABC 공정을 대상으로 생물막에서 서식하고 있는 세균의 종류와 수를 조사하였다. 배양 가능한 세균은 물론 배양 불가능한 세균까지도 확인하기 위하여 생물막에 들어 있는 생물체 유전자 즉 DNA를 검출하여 그 염기서열로서 종류를 확인하였다.

#### (1) 생물막 미생물의 수

##### (가) 종속영양세균수

자연생태계에서 생장물이 느린 호기성 종속영양세균(heterotrophic bacteria)까지도 계수할 수 있도록 하기 위하여 TSA(tryptic soy agar 혹은 trypticase soy agar) 배지(pancreatic digest of casein 혹은 tryptone 15 g/ℓ, papaic digest of soybean meal 혹은 soytone 5 g/ℓ, NaCl 5 g/ℓ, agar 15 g/ℓ, pH 7.3)(Atlas, 1997)에 연속희석된 하수시료 0.1 ml를 도말(spreading)하였다. 생물막과 슬러지 시료는 진탕(vortexing), 음파처리(sonication), 원심분리(centrifugation) 등의 방법으로 세포를 멸균된 생리식염수(0.85 % NaCl)에 용출시킨 후 상층수(supernatant) 시료를 연속희석하여 TSA 배지에 도말하였다. 시료가 접종된 평판은 37℃에서 48시간 배양하여 나타난 모든 콜로니(colony)를 계수하였다(<그림 3-2-58> 참조).

##### (나) 바실러스균수

종속영양세균의 계수에서와 마찬가지로 적절히 연속희석된 시료를 도말평판법으로 바실러스균(bacilli)을 계수하였다. 다만 배지는 바실러스균의 판별이 보다 좋은 것으로 알려진 바실러스 배지(nutrient broth 8 g/ℓ, glucose 8 g/ℓ, NaCl 6 g/ℓ, agar 15 g/ℓ)를 사용하였다(Murakami 등, 1995). 37℃에서 48시간 동안 배양하여 평판에 형성된 콜로니 가운데 세포외중합체(EPS)가 분비되어 크고 희거나 회색, 혹은 크림색의 전형적인 바실러스 콜로니만을 계수하였다(<그림 3-2-58> 및 <그림 3-2-59> 참조).

다음으로는 이 콜로니가 바실러스인지를 확인하기 위하여 순수배양한 균주에 대하여 Gram 염색 특성과 세포모양, 60℃에서 30분 동안 열처리 후 포자염색을 하여 내생포자가 있는 그람양성의 간균(<그림 3-2-60> 참조)인 것만을 바실러스균으로 간주하여 계수하였다.

## (2) 생물막 미생물의 종류

### (가) 종속영양세균

평판배지에서 형성된 전형적인 바실러스 콜로니가 아닌 종속영양세균을 콜로니 모양과 크기별로 임의로 균주를 분리하여 순수배양한 후 Gram 특성, 세포 모양, oxidase 시험, catalase 시험, 내생포자 형성 여부를 확인한 뒤 세포막의 지방산 프로파일(fatty acid methyl ester, FAME)을 gas chromatography로 분석하여 그 종을 동정하는 MIDI 동정 시스템을 이용하였다(Smibert 와 Krieg, 1994).

MIDI 동정 시스템으로서 그 종류가 확인된 일부 세균과 종류가 확인되지 않은 일부 세균은 리보솜 DNA 염기서열을 분석하는 유전자 분석법으로 동정하여((나) 바실러스균 유전자 동정법 참조) 그 결과를 비교해 보았다.

### (나) 바실러스균

바실러스균의 동정은 세포의 유전자 염기서열을 분석하는 유전자 분석법으로 실시하였다. 즉 바실러스 배지에서 EPS 분비에 따른 전형적인 바실러스 콜로니 모양을 보이는 균주 가운데 Gram 양성의 내생포자를 형성하는 간균만을 순수배양하였다. 순수배양된 세포에서 16S rRNA 유전자(16S rDNA)를 추출한 뒤 이를 진정세균의 공통 primers(27F, 1492R)를 사용하여 증폭(amplification)하는(Lane, 1991) 이른바 colony polymerase chain reaction(colony PCR)을 실시하였다(증폭 조건: 94℃에서 3분; 94℃에서 1.5분→50℃에서 1분→72℃에서 2분을 35 cycle 반복; 72℃에서 30분 반응 후 4℃ 유지). 이렇게 얻어진 대량의 PCR 산물을 1% agarose gel에 전기영동(electrophoresis)하여 1.5 kb 크기의 DNA 조각(band)을 확인한 뒤 정제 및 농축하였다. 정제 농축된 DNA는 다시 1% agarose gel에서 그 크기를 확인한 후 한국과학기술원 의과학연구센터에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 분석된 염기서열 자료는 미국 국립생명공학정보센터(National Center for Biotechnology Information, NCBI)의 데이터베이스에 수록된 미생물의 염기서열과의 유사도를 비교함으로써 종을 동정하였다(Joung 등, 2001).

### (다) 생물막의 DNA 분석으로 밝혀진 미생물 종류

생물학적 하수처리시스템에 서식하는 미생물 가운데 평판계수법으로 검출되는 세균은 총세균수의 15% 미만에 불과하므로(Amann 등, 1995) 배양기법으로는 극히

일부만의 세균을 확인할 수 있을 뿐이다. 따라서 본 연구에서 제작한 파일럿 및 실증 플랜트 RABC 공정의 생물막을 채취하여 서식하는 미생물을 배양하는 대신 생물막내 미생물 DNA를 직접 추출하여 그 염기서열을 확인하여 종을 동정하였다.

생물막 시료를 SDS lysis 용액[100 mM NaCl, 500 mM Tris HCl(pH 8), 10% SDS]에 담그고 지름 0.1 mm 규소 비드(silica beads)를 넣은 다음 Mini-Bead Beater로서 10분 동안 세포를 깨뜨렸다. 12,000×g에서 3분 동안 원심분리하여 상층수만을 따라 내는 작업을 2회 반복하여 세포의 DNA를 추출하였다(Ogram, A., 1998). 추출한 DNA는 정제한 후 앞에서 언급한 바실러스균 유전자 분석과 같은 방법을 사용하여 세균의 16S rDNA를 대량 증폭, 정제, 농축하였다. 정제 농축된 16S rDNA PCR 산물을 pGEM-T vector system(Promega Co., Madison, WI, USA)에 결합(ligation)시킨 후 이를 *E. coli* DH5a competent cell에 형질전환(transformation)시켰다. 형질전환된 *E. coli* DH5a는 LB 배지(ampicillin 100 µg/ml, IPTG 0.5 mM, X-Gal 50 µg/ml)에 접종하여 35℃에서 1일 배양한 후 형성되는 콜로니 가운데 흰 색깔의 콜로니만을 선별하여 농화배양하였다. 농화배양된 *E. coli* 세포에 증폭된 16S rDNA가 삽입된 것을 최종 확인하기 위하여 pGEM-T vector primers인 T7과 SP6을 이용하여 colony PCR을 수행하여 1.6 kb의 조각 크기가 확인된 것만을 DNA library로 삼았다. 이렇게 얻어진 DNA library는 생물막 세균의 16S rDNA가 삽입되어 있으며 동시에 같은 종류의 DNA도 있을 수 있으므로 제한효소인 *Hae*III를 사용하여 DNA를 자른 후 나타나는 조각의 수와 크기로서 종류를 확인하는 제한조각 길이다형성(restriction fragment length polymorphism, RFLP) 기법을 사용하였다. 즉 RFLP가 동일하면 유전자가 동일한 계통형(phylo type)으로 간주하는 것이다. 이렇게 서로 다른 계통형으로 확인된 DNA library 가운데 대표 균주에 대해서 16S rDNA 염기서열을 분석하여 종을 확인하였다(이관복, 2003).

#### 나. 오염물질 처리능력이 탁월한 미생물 탐색 및 분리

##### (1) 유기물 분해 능력

##### (가) 처리 단계별 유기물의 분해능

채취한 생물막 및 슬러지를 일정농도로 희석하여 영양액체(nutrient broth, NB) 배지에 녹말(전분, starch), 스킴 밀크(skim milk) 및 tricaprillin을 1% 되게 제조한 배지에 접종한 후 30℃, 150 rpm의 조건으로 배양하면서 4시간 간격으로 시료를 취

하여 유기물 분해효소의 역가를 측정하였다.

#### (나) 유기물 분해 바실러스균의 분리 및 분포

생물막, 생물반응조 및 슬러지에 분포하는 바실러스균을 분리하기 위하여 각 시료를 희석하여 포도당(glucose)을 첨가한 영양액배지에 접종, 배양하여 나타나는 콜로니 가운데 바실러스균의 특징을 지니는 것만을 분리하여 포자염색을 통하여 1차 동정을 하였다. 단백질 및 지방 분해능을 측정하기 위해 선별된 콜로니를 대상으로 같은 배지에 skim milk와 tricaprlylin을 각각 1% 되게 첨가한 후 각 콜로니를 접종하여 배양한 후 투명환을 형성하는 능력을 측정하였다. 녹말 분해능은 같은 배지에 녹말을 1% 되게 처리하여 제조한 배지에 콜로니를 접종하여 배양한 후 요오드용액을 떨어뜨려 콜로니 주위에 무색환을 형성하는 것만을 양성으로 간주하였다.

#### (다) 단백질 분해 미생물의 분리 동정 및 특성 규명

RABC 공정의 단계별로 채취한 시료를 희석한 후 skim milk 한천 배지에 접종하여 30℃에서 48시간 배양한 후 투명환을 형성하는 콜로니 가운데서 투명환이 큰 것을 선택하여 각각 Ni26, Ni36, Ni39 및 Ni49로 명명하였다. 선별된 콜로니의 형태학적, 생리학적 특성 및 16S rDNA 염기서열 분석(sequencing)의 방법을 사용하여 동정하였으며, 이를 기초로 계통분류학적 계통도를 작성하였다. 분리한 균주를 1.0% skim milk가 함유된 영양액배지에서 24시간 배양하고, 배양액을 10,000×g로 10분 원심분리하여 단백질 분해 조효소를 얻었다. 단백질 분해효소의 활성도는 Sarath 등 (1989)의 방법에 따라 azocasein을 기질로 하여 측정하였으며, 단백질 정량은 Bradford (1976)의 방법을 따랐다. 조효소를 casein이 0.05% 함유된 polyacrylamide gel을 만들어 전기영동한 후 Coomassie brilliant blue를 사용하여 단백질 분해 효소의 활성 염색을 행하였으며, 여러 가지 단백질분해효소 저해제(protease inhibitor)를 사용하여 단백질 분해효소의 특성을 밝혔다.

#### (2) 고도처리 능력

RABC 공정의 고도처리능력을 확인하기 위해서 2가지 접근 방법을 사용하였다. 첫째는 RABC 공정의 생물막, 포기조 활성슬러지, 슬러지케이크 등에서 순수분리 배양된 녹말, 단백질, 지방 등과 같은 유기물 분해능이 우수한 바실러스균들을 대상

으로 이들의 질소 및 인의 제거능력을 살펴보는 것이다. 둘째는 RABC 공정에서 검출된 미생물 가운데서 기존의 다른 연구보고에서 이미 고도처리능력이 검증된 미생물의 존재 유무를 확인하는 것이다.

#### (가) RABC 공정에서 분리된 바실러스균의 고도처리 능력

질소와 인의 제거능력 실험은 1차년도에는 RABC 생물막에서 가장 많이 검출된 2종류의 바실러스균(*Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp.) 가운데 대표적인 것을 각각 1개씩 모두 2개의 바실러스균을 대상으로 1회 실험하였다. 2차년도에는 RABC 생물막에서 검출된 11개의 바실러스균주와 1개의 바실러스균이 아닌 호기성 세균인 *Aeromonas hydrophila* 등 모두 12개의 균주를 대상으로 3회 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 13개의 바실러스균에는 본 연구의 RABC 공정에서 검출된 6종류의 바실러스 종이 모두 포함되어 있다.

고도처리능력을 실험하기 위한 배지는 미생물의 탄소원, 무기질소와 무기인, 그리고 기타 미네랄을 첨가하여 본 연구에서 적합한 인공하수(artificial sewage)를 제조하였다. 탄소원으로는 미생물 배지에 가장 많이 사용하는 종류인 쇠고기 추출물(beef extract), 펩톤(peptone), 포도당(glucose)을, 질소원으로는 암모늄과 인원으로는 인산염, 그리고 나트륨, 칼슘, 마그네슘, 철 등의 미네랄을 첨가하였다. 인공배지의 유기물 농도는 반응속도를 빨리 하는 목적 외에도 생물막 환경이 유입하수에 포함된 유기물과 더불어 생물막 미생물들이 분비하는 다량의 세포외중합체를 고려하여 유입하수보다 상대적으로 높은 COD<sub>Cr</sub> 700~3,000 mg/ℓ, NH<sub>3</sub>-N 15~50 mg/ℓ, PO<sub>4</sub>-P 5~15 mg/ℓ 정도로 유지하였다. 인공배지의 조성은 다음과 같다. Beef extract 0.4 g/ℓ, peptone 0.67 g/ℓ, glucose 1.0 g/ℓ, NaCl 0.6 g/ℓ, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.022 g/ℓ, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.28 g/ℓ, CaCl<sub>2</sub> 0.294 g/ℓ, MgSO<sub>4</sub> 0.468 g/ℓ, FeSO<sub>4</sub> 0.014 g/ℓ, EDTA 0.018 g/ℓ.

이 인공배지를 13개의 500-ml 들이 플라스크에 각각 200ml씩 넣고서 농화배양된 12개의 실험균주를 2ml씩을 접종하고 1개의 플라스크에는 균주를 접종하지 않은 대조군(control)으로 삼아 접종된 플라스크와 똑 같은 방법으로 실험을 실시하였다. 대조군 및 12개의 접종 플라스크를 200rpm의 진탕배양기에서 최소 48시간에서 최대 96시간 동안 배양하면서 24시간 간격으로 플라스크 안에 든 인공배지의 NH<sub>3</sub>-N 및 PO<sub>4</sub>-P 농도 변화를 측정하였다. 암모니아성 질소 측정법은 암모니아와 차아염소산

이온 및 페놀과 결합되어 나타나는 푸른색의 인도페놀(indophenol)의 흡광도(OD, optical density)를 643nm에서 측정하는 피네이트법(phenate method)을 사용하였다. 인산성 인의 농도는 인산염과 염화주석 및 몰리브덴과 결합시켜 형성되는 푸른색의 몰리브덴의 흡광도를 690nm에서 측정하는 염화주석법(stannous chloride method)으로 측정하였다.

#### (나) RABC 생물막에서 검출된 고도처리능력을 지닌 세균의 확인

생물막에서 분리 배양 후 동정된 바실러스균 및 호기성 종속영양세균, 그리고 유전자 분석법으로 동정된 세균 집단을 대상으로 기존의 여러 연구 자료와 미국 국립생명정보센터(National Center for Biotechnology Information, NCBI)의 데이터베이스 등을 이용하여 이들이 고도처리 능력을 지니고 있는지를 확인하였다.

#### 다. 종균제 생산을 위한 바실러스균의 포자화

##### (1) 대상 바실러스균의 선정

포자화 실험을 위한 바실러스균은 본 RABC 공정에서 주로 검출되는 바실러스균 종류인 Group II에 속하며(<표 2-1-1> 참조) 그 특성이 잘 알려져 있는 *Bacillus thuringiensis*를 선정하였다. 이 바실러스균은 활성슬러지공정의 도시하수 처리장에서 흔히 검출된다(Mizuki 등, 2001). 세포 안에는 1개씩의 내생포자(endospores)가 형성되며 세포내소기관으로서 다양한 모양의 기포자 봉입체(parasporal inclusions)가 들어 있는데 여기서 식물 질병 유발 나비목 곤충의 유충을 죽이는 살충단백질(Bt 독소)이 분비된다.

##### (2) 바실러스균의 농화배양

많은 수의 포자를 얻기 위해서는 영양세포를 대량으로 증식시키는 농화배양(enrichment culture)이 선행되어야 한다. 농화배양은 -70℃에 저장된 *B. thuringiensis*를 녹인 용액 5μl를 바실러스 액체배지(beef extract 3 g/l, peptone 5 g/l, glucose 8 g/l, NaCl 6 g/l; Murakami 등, 1995) 10ml에 접종하여 200 rpm의 진탕배양기에서 37℃ 24시간 1차 농화배양하였다. 1차 농화배양액 2.5μl를 다시 같은 배지 10ml에 접종하여 1차 농화배양과 같은 조건에서 2차 농화배양하였다. 계속해서 2차 농화배양액 2.5μl를 같은 배지 10ml에 접종하고 같은 조건으로 3차 농

화배양을 실시하였다. 이 3차 농화배양액  $2.5\mu\text{l}$ 를 포자화 배지에 접종하여 영양세포의 포자화 실험을 실시하였다. 또한 포자화를 증진시킨다고 알려진  $\text{SiO}_2$   $5 \times 10^{-5}$  M을 포자화 배지에 첨가하여(Murakami, 1995) 그 효과를 살펴보았다.

#### (3) 농화배양된 바실러스균의 포자화를 위한 배양시간의 결정

바실러스균의 1차 농화배양액  $2.5\mu\text{l}$ 을 따서 바실러스균 포자화 배지(*Bacillus* sporulation media, Gerhardt 등, 1981: beef extract 3 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 5 g/l, yeast extract 5 g/l,  $\text{CaCl}_2$   $7 \times 10^{-4}$  M,  $\text{MgCl}_2$   $1 \times 10^{-3}$  M,  $\text{MnCl}_2$   $5 \times 10^{-5}$  M) 10ml에 접종하고  $37^\circ\text{C}$ 에서 28일 동안 진탕 배양하면서 배양시간별로 영양세포수와 내생포자수를 세어 가장 효율적인 배양시간을 결정하였다.

#### (4) 바실러스균 영양세포와 내생포자의 계수

바실러스균 영양세포와 내생포자의 수를 세기 위하여 시료  $2.5\mu\text{l}$ 를 슬라이드 유리(slide glass)에  $1.0\text{cm} \times 1.0\text{cm}$ 의 넓이로 도말하여 말리고 열로 고정한 후 malachite green과 safranin O로 염색하였다(Schaeffer and Fulton modification spore stain; Clark, 1981). 염색한 슬라이드 유리를  $1600\times$  배율의 위상차현미경(Axioskop 50, Carl Zeiss, Germany)에서 보이는 모든 격자(grid) 즉 25개의 큰 격자(100개의 작은 격자) 안에 들어 있는 녹색으로 보이는 내생포자와 붉은색으로 보이는 영양세포의 수를 세었다. 시료 1개당 무작위로 채물대를 30번 돌려 가면서(30 fields) 관찰되는 세포와 포자수를 세고 이것의 평균값을 취하였다. 시료 단위부피당 세포수와 포자수의 계산은 시료도말 면적( $1\text{cm}^2$ )과  $1600\times$  배율로 관찰되는 25개의 큰 격자의 실제 면적( $311.8756\mu\text{m}^2$ )으로 나눈 환산계수 12825.62663을 field당 평균 세포수 및 포자수와 곱한 다음 시료 1ml당 개수로 표시하였다.

#### (5) 포자화 기법의 효율성 비교

바실러스균의 내생포자수가 최대가 될 수 있도록 3차 농화배양액  $2.5\mu\text{l}$ 을 따 바실러스 포자화 배지 10ml에 접종하고 4일 동안 배양한 후 이 배양액을 5일 동안 굶김(starvation; 배양액을 제거하고 세포 및 포자를 증류수로 3번 세척한 후 원심분리한 침전물 세포덩어리를 0.85% NaCl 용액에서 혼합)과 굶긴 후 열처리(heating; 굶긴 다음  $80^\circ\text{C}$  10분 가열)를 날마다 반복해 주면서 영양세포수와

내생포자수를 세고 포자화율을 계산하였다.

끓길 때의 원심분리 효율을 판단하기 위하여 원심분리한 후의 상층수(supernatant)에 포함된 세포수와 포자수를 관찰하였다. 열처리 방법인 60℃ 10분, 70℃ 10분, 80℃ 10분, 80℃ 5분의 경우 모두에 대해서 영양세포수와 내생포자수를 세어 가장 효과적인 포자화 열처리 조건을 알아보았다.

#### 라. 바실러스균의 하수 최적처리조건

본 연구에서 유기물 분해 능력과 동시에 고도처리 능력이 검증된 확인된 11종의 바실러스균과 1종의 에어로모나스균 등 12종의 세균이 최대의 하수처리효과를 나타낼 수 있는 환경조건을 알아보기 위하여 순수 분리한 세균을 바실러스 배지(beef extract 3 g/ℓ, peptone 5 g/ℓ, glucose 8 g/ℓ, NaCl 6 g/ℓ; Murakami 등, 1995)에 접종하고서 pH, 온도, 산소의 변화에 따른 생장 여부를 확인하였다.

##### (1) pH

바실러스 액체배지의 pH를 4.5, 5, 5.5와 산성 조건과 8.5, 9, 9.5의 알칼리성 조건을 만들어 여기에 시험균주를 접종한 후 1주일 동안 배양하면서 균주를 접종하지 않은 대조균 시험관 배지와와의 탁도 차이를 매일 관찰하여 생장 여부를 확인하였다.

##### (2) 온도

바실러스 한천배지에 시험균주를 스트리킹한 후 우리나라의 기후 조건을 고려하여 기온이 낮은 동절기의 생장 여부를 확인하기 위하여 10, 15, 20℃의 조건에서 1주일 동안 배양하면서 매일 콜로니 형성 여부를 관찰하였다.

##### (3) 산소

실험대상인 모든 세균을 호기성 환경에서 배양하여 검출한 것이기는 하지만 혐기성 조건에서도 생장 가능한 통성혐기성 세균인지를 확인하기 위하여 공기가 통하지 않으며 내부의 산소를 제거한 혐기성 배양기(anaerobic jar)에 바실러스 한천배지에 접종한 평판을 넣고서 1주일 동안 배양하면서 매일 콜로니 형성 여부를 확인하였다.



## 마. 생리활성물질

### (1) 다당류 생산 균주의 분리

분리한 바실러스균을 대상으로 포도당을 첨가한 영양액배지에서 배양한 후 주변에 점액질을 많이 분비하는 콜로니를 선별하였으며, 가장 많은 양의 점액질을 분비하는 #175 균주를 선별하여 이 균주가 분비하는 다당류(polysaccharides)를 추출하였다.

### (2) 다당류의 추출 및 정제

균주 #175의 배양액을 9,800×g에서 20분간 원심분리하여 세포를 제거하고, 동량의 에탄올을 가하여 -18℃에서 하루 동안 방치하였다. 침전물을 원심분리하여 회수하고, 1/10 부피의 증류수를 가하여 침전물을 녹이는 과정을 2~3회 반복하여 완전히 녹인 후 투석을 실시하였다. 투석은 증류수에서 약 3일간 시행하였으며, 얻어진 용액을 동결건조하여 저온 상태로 보관하였다.

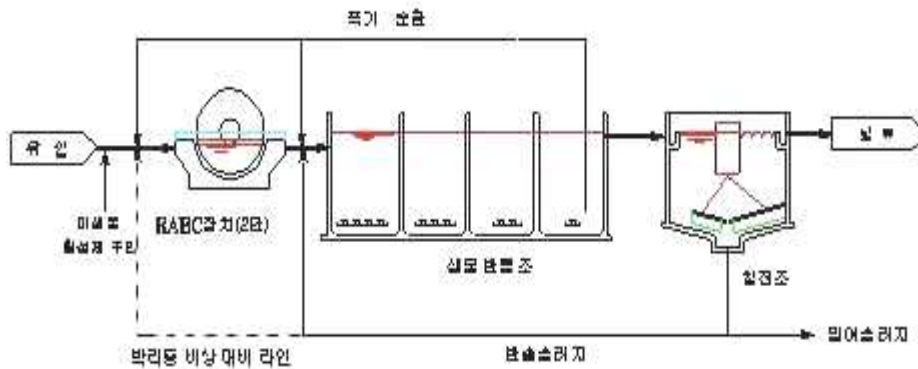
### (3) 단백질 분해효소의 분리 정제 및 특성

분리한 세균 중 단백질 분해 활성이 가장 높은 균주 Ni39(*Aeromonas hydrophila*)를 대상으로 단백질 분해효소의 분리 및 특성을 규명하였다. 효소의 분리는 배양액을 원심분리하여 상층액(supernatant)을 회수한 후 아세톤을 70% 농도로 가하여 단백질을 침전시키고, 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물을 20 mM 인산완충용액(pH 7.0)에 녹인 후 동일한 완충용액으로 세척되고 0~0.2 M 농도 기울기의 NaCl 용액으로 충전된 Q Sepharose 컬럼에 통과시켜서 효소 활성이 있는 분획을 용출시켰다. 효소 활성이 있는 분획만을 모아 농축한 후 Sephacryl S-200HR 컬럼으로 효소의 순도를 더욱 높였으며 효소 순도는 전기영동을 통하여 측정하였다. 순수분리된 효소의 분자량은 젤여과크로마토그래피(gel-chromatography)와 SDS-PAGE의 방법으로 측정하였으며, 등전점은 isoelectric focusing을 행하여 측정하였다.

## 제2절 연구결과

### 1. RABC 공정

#### 가. 기본공정



<그림 3-2-1 RABC SYSTEM 처리공정도>

망상형 회전식 바실러스 접촉장치(Rotating Activated Bacillus Contactor, 이하 RABC)를 이용한 본 공정은 기존의 회전원판법과 표준활성슬러지공법을 단순히 결합시킨 복합공법이 아닌 바실러스균의 생물학적 특징과 망상형 담체의 특성을 잘 결합시킨 새로운 복합공법이다. <그림 3-2-1>은 RABC 하수처리공정도를 나타내었다. 본 공정은 크게 전단의 RABC 장치, 점감포기방식으로 운전되는 생물반응조, 침전지의 세부분으로 나눌 수 있으며, 장치내의 균체량을 조정하기 위한 포기액 순환 및 슬러지 반송과 유기물 부하에 따른 미생물활성제 투입을 주요 공정으로 채택하고 있다.

위 공정도의 생물반응조에서 이루어지는 점감포기공정은 4조로 이루어진 생물반응조에서의 DO를 점감 조절함으로써 이루어진다. 초단에서는 DO를  $0.5 \sim 1.0 \text{ mg/l}$ 로 유지시키고 나머지에서는  $0.1 \sim 0.3 \text{ mg/l}$ 의 낮은 DO조건을 유지시키면서 점감포기를 하며, 침전조에서 RABC 장치와 생물반응조 1조로 슬러지 반송과 생물반응조 4조에서 RABC 장치와 생물반응조 1조의 포기액 순환을 한다.

#### 나. 바실러스균의 우점화

우점(predominance, dominance)이란 용어는 여러 생물 군집이 상호작용을 하면서 공존하고 있는 생태계(ecosystem)에서 특정 생물 집단이 수적, 기능적 혹은 영향력의 측면에서 현저하게 중요한 역할을 하는 것을 의미하며, 어떤 생태계에서 우점하고 있는 생물종을 우점종(dominant species)이라고 한다. 따라서 어떤 생태계에서 인위적으로 특정 생물종이 우점하도록 만드는 것을 우점화라고 할 수 있다.

어떤 생태계에서 우점종을 확인하는 것은 쉽지 않은데, 그 까닭은 우점종이 되기 위한 절대적인 기준이 설정되어 있지 않기 때문이다. 미생물 생태계에서의 우점종은 해당 생태계에 서식하고 있는 미생물 집단의 종류 및 수를 확인한 후 수가 가장 많이 검출되는 상위 몇 종류를 우점종으로 인정하는 것이 일반적이다. 활성슬러지공정의 포기조에는 세균만 하더라도 수백 종에 달하는 것으로 추정되고 있으며 (Bitton, 1999) 이 밖의 균류, 원생동물, 윤충류 등을 고려하면 천 종 이상이 미생물이 살고 있는 것으로 보인다. 호기성 조건뿐만 아니라 미호기성 및 혐기성 조건이 공존하는 생물막에는 활성슬러지공정의 포기조에 서식하고 있는 미생물보다 훨씬 많은 미생물이 사는 것으로 추정된다. 그러므로 수백 종이 살고 있는 생물학적 하폐수처리공정에서 수적으로 1% 이상을 차지하는 미생물의 경우 우리는 우점종이라고 부를 수 있는 것이다.

RABC 공정에서의 가장 중요한 특징의 하나는 유기물, 질소나 인을 포함한 무기물, 약취, 그리고 병원균의 제거 능력이 탁월한 것으로 알려진 바실러스균(*Bacillus*)을 생물막에 우점화하는데 있다. 따라서 RABC 공정의 성공여부는 바로 바실러스균의 우점화 정도에 달려 있다고 해도 과언이 아닌 것이다.

하폐수처리장에서 바실러스의 우점화 정도는 생물막공정의 생물막과 활성슬러지공정의 포기조에 서식하고 있는 바실러스균수, 그리고 배양가능한 호기성 종속영양세균(heterotrophic bacteria) 가운데 바실러스균이 차지하는 비율을 비교 분석함으로써 확인하였다.

<표 3-2-1>은 바실러스를 우점화시킨 RABC 생물막공정 및 B3 활성슬러지공정, 현재 가동 중인 전형적인 RBC 생물막공정 및 활성슬러지공정에서 검출된 종속영양세균수와 바실러스균수, 그리고 바실러스균 비율을 나타낸 것이다.

RABC 공정의 생물막에서는  $10^6 \sim 10^8$  CFU/mL의 바실러스균이 검출된 반면 RBC 공정의 생물막에서는  $10^5$  CFU/mL, 활성슬러지공정의 포기조에서는  $10^4$  CFU/

ml의 바실러스가 검출됨으로써 RABC 생물막에는 기존 RBC 생물막의 약 10~1,000배, 활성슬러지공정 포기조의 약 100~10,000배에 해당하는 바실러스균이 서식하는 것으로 확인되었다.

RABC 공정의 경우 생물막내 종속영양세균수는  $10^7 \sim 10^9$  CFU/ml, 내생포자(endospore)의 존재로 확인한 바실러스균수는  $10^6 \sim 10^8$  CFU/ml로서 생물막 바실러스균 수는 종속영양세균수의 2.0~11.0%를 차지하였다. 본 연구에서 설치한 파일럿 플랜트(Pilot plant) 및 실증 플랜트(Full-scale plant) RABC 공정에서의 생물막내 바실러스균 비율은 각각 6.7% 및 6.3%, 그리고 제1포기조에서의 바실러스균 비율은 각각 9.2%와 4.5%로 나타났다. 한편 바실러스균을 우점화시킨 B3 활성슬러지공정을 사용하는 울산분뇨처리장 및 일본분뇨처리장의 탈수케이크의 바실러스균 비율이 8.5%와 6.1%인 것으로 미루어 B3 공정 포기조의 바실러스균 비율도 이 정도 수준인 것으로 짐작된다. 참고로 안태석 등(2001)은 B3 활성슬러지공정의 포기조에서 FISH(fluorescent *in situ* hybridization, 형광현장교잡) 방법으로 계수한 바실러스균 비율을 조사한 결과 현미경으로 직접계수한 총세균수(DAPI)의 8~60%의 범위인 것으로 보고하였다. 이와는 대조적으로 기존 생물막 공정인 RBC 공정의 생물막내 바실러스균 비율은 0.4%, 활성슬러지공정의 포기조 내 바실러스균 비율은 0.8% 수준으로 RABC 공정에 비하여 훨씬 낮은 점유율을 나타냄으로써 RABC 공정의 생물막이나 포기조는 바실러스균으로 우점화되어 있다는 사실이 확인되었다.

<표 3-2-1> 하폐수처리공정별 바실러스균의 우점화 정도

하폐수처리장	공정 <sup>a</sup>	시료	단위 <sup>b</sup>	중속영양세균수 (A)	바실러스균수		바실러스 비율 (C/A, %)
					콜로니모양 기준(B)	내생포자 기준(C)	
N-하수처리장에 설치한 파일럿 플랜트 RABC 공정	RABC	생물막	CFU/ml	$3.6 \times 10^7$	$5.1 \times 10^6$	$2.4 \times 10^6$	6.7
		제1포기조	"	$2.4 \times 10^6$	$4.3 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	9.2
		반송슬러지	"	$4.6 \times 10^6$	$9.8 \times 10^5$	$4.3 \times 10^5$	9.3
P-하수처리장에 설치한 실증 플랜트 RABC 공정	RABC	생물막	CFU/ml	$1.9 \times 10^8$	$1.4 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7$	6.3
		제1포기조	"	$2.2 \times 10^7$	$1.1 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6$	4.5
		반송슬러지	"	$2.3 \times 10^7$	$1.5 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$	5.7
롯데칠성음료(안성공장)	RABC	생물막	"	$1.5 \times 10^9$	$8.1 \times 10^7$	$4.1 \times 10^7$	2.7
롯데삼강(서울영등포공장)	RABC	생물막	"	$3.8 \times 10^9$	$2.0 \times 10^8$	$1.2 \times 10^8$	3.2
롯데제과(평택공장)	RABC	생물막	"	$1.5 \times 10^9$	$3.9 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	2.0
롯데햄제과(김천공장)	RABC	생물막	"	$2.0 \times 10^8$	$3.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	10.0
해양대학교	RABC	생물막	"	$5.1 \times 10^8$	$8.0 \times 10^7$	$5.6 \times 10^7$	11.0
		농축슬러지	"	$2.2 \times 10^8$	$1.9 \times 10^7$	$1.6 \times 10^7$	7.3
		탈수케이크	CFU/g	$1.3 \times 10^8$	$2.4 \times 10^7$	$1.6 \times 10^7$	12.3
울산분뇨처리장	B3	탈수케이크	"	$1.3 \times 10^7$	$1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	8.5
일본 웰시푸드(낮또)와타나 베공장	RABC	최종방류수	CFU/ml	$5.8 \times 10^4$	$2.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$	29.3
		탈수케이크	CFU/g	$7.5 \times 10^6$	$4.6 \times 10^6$	$4.2 \times 10^6$	56.0
일본大船軒도시락공장	B3	반송슬러지	CFU/ml	$3.2 \times 10^6$	$2.2 \times 10^6$	$9.2 \times 10^5$	28.8
일본伊那중양위생센터(분 뇨처리장)	B3	탈수케이크	CFU/g	$7.4 \times 10^7$	$1.8 \times 10^7$	$4.5 \times 10^6$	6.1
수안보온천하수처리장	RBC	생물막	CFU/ml	$2.4 \times 10^7$	$2.4 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	0.4
대전하수종말처리장	활성슬러지	포기조유출수	CFU/ml	$1.1 \times 10^6$	$7.0 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	0.8

<sup>a</sup>RABC, rotating activated *Bacillus* contactor, 망상형 회전식 바실러스 접촉공정; B3, 바실러스 우점화 활성슬러지공정; RBC, rotating biological contactor, 회전원판공정.

<sup>b</sup>CFU/ml, colony forming units per milliliter of sample; CFU/g, colony forming unit per gram of sample.

## 2. 파일럿 플랜트(Pilot plant) RABC 공정

### 가. 공정 분석 및 단위공정별 수질 분석

RABC SYSTEM의 수질분석은 주 2회 실시하는 것을 원칙으로 하였으며, 유기물 및 영양염류제거와  $\text{PO}_4\text{-P}$  관련해 SS, BOD,  $\text{COD}_{\text{cr}}$ , TN,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , TP, 의 항목에 대해 분석하였고, 제거반응의 양상을 파악하기 위해 수온,

pH, DO 및 MLSS농도에 대한 분석도 함께 수행하였다. <표 3-2-2>에 수질 항목에 대한 각각의 실험 방법을 나타내었다.

<표 3-2-2> 실험항목 및 분석방법

분석항목	분석 방법	비고
BOD <sub>5</sub>	Azide modification method	Standard method
COD <sub>cr</sub>	중크롬산 칼륨법	Standard method
TN	공정시험법으로 전처리한 후 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N측정법과 동일하게 측정	Standard method
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	흡광광도법	Standard method
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	흡광광도법	공정시험법
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	흡광광도법	공정시험법
TP	공정시험법으로 전처리한 후 PO <sub>4</sub> -P 측정법과 동일하게 측정	Standard method
	흡광광도법	Standard method
SS	-	Standard method
DO, pH, MLSS	-	DO & pH & MLSS meter

N-하수처리장의 RABC SYSTEM에 의한 하수 처리의 Mass Balance 및 질소 제거 메커니즘을 규명하기 위해 본 SYSTEM의 하수 처리 계통도를 반응조 용량 및 반송유량에 근거하여 <그림 3-2-2>에 나타내었다. <표 3-2-3>에는 각 단위 공정별 처리수질을 나타내었다. 수질분석은 공정 내 미생물상이 안정적으로 유지되어 정상적인 하수처리 효율을 보였던 2002년 4월의 시료를 채취하여 행하였다. 이 때의 파일럿 플랜트의 평균적인 처리 유량은 50m<sup>3</sup>/day 이며, 유입원수의 낮은 BOD부하나 생물반응조에서의 포기량의 과다로 인한 질산화 현상 등이 문제가 되었으나, 과다한 질산화 현상은 포기량을 조절함으로써 단기간에 해결할 수 있었다.

<표 3-2-3>에서 보이는 것처럼 채취한 원수의 분석결과 원수에 함유된 질소원의 90%이상이 암모니아성 질소의 형태로 존재하였으며, 아질산성 및 질산성 질소의 농도는 0.2mg/ℓ, 0.43mg/ℓ 으로 낮았고, 하수처리사업소로 유입되는 동안 대부분의 유기질소 성분이 암모니아성 질소성분으로 변환되었음을 알 수 있다.

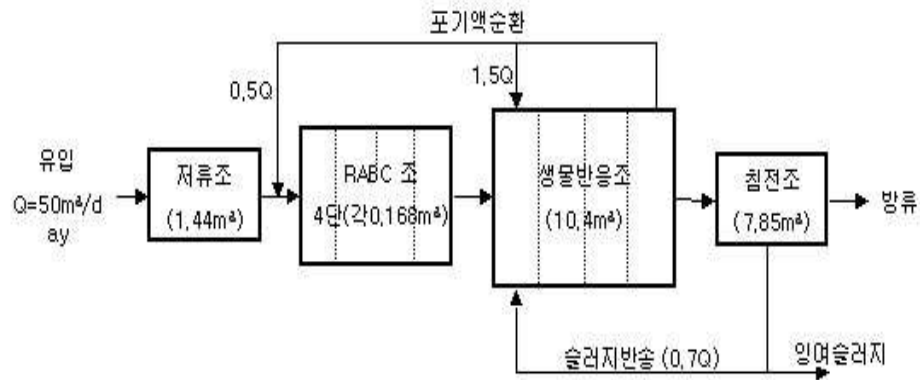
<표 3-2-3> 유입원수의 성상

(단위: mg/ℓ)

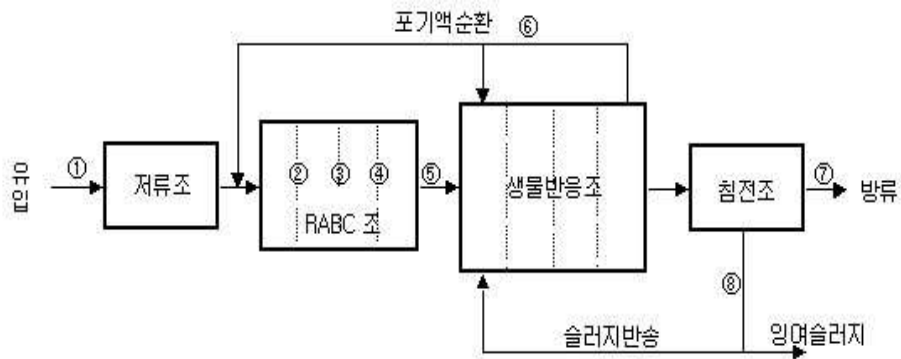
항목	농도	대표값	비고
SS	50 ~ 100	80	※ 유입수 파이프의 위치가 높아 SS 분이 다소 낮은 값을 보이고 있음  ※ 대표값은 본 보고서의 수질자료분석 에 사용되어진 값이며, 건기시의 수질 자료의 일반적 범위에 속한다.
BOD <sub>5</sub>	110 ~ 160	146	
COD <sub>cr</sub>	130 ~ 200	172	
TN	20 ~ 35	31.88	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	18 ~ 30	29.58	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	0.15 ~ 0.30	0.2	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	0.3 ~ 0.5	0.43	
TP	2 ~ 3	2.37	
PO <sub>4</sub> -P	0.9 ~ 1.4	1.28	

유입원수의 BOD<sub>5</sub> 농도를 일반적인 도시 하수에 적용할 수 있는 1.5배의 값을 BOD<sub>u</sub>로 산정하여 영양비를 산출하면 100 : 20.2 (BOD<sub>u</sub> : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N = 146 : 29.58)이 된다. 또한, 현재의 운전방식이 생물반응조 4단에서 RABC 1단으로 포기액을 0.5Q 하고 있으므로, 생물반응조 4단의 수질을 통하여 RABC조의 영양비를 재 산출하면 100 : 21.0(BOD<sub>u</sub> : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N = 100 : 21.03)의 값으로 시스템 자체에서 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N의 부하량을 낮추는 방식으로 운전되고 있음을 알 수 있다. 또한 인산염 농도는 1.28mg/ℓ로 일반적인 호기성 처리공법에서 사용하고 있는 영양밸런스에서 질소분이 다소 높은 비를 가짐을 알 수 있다.

<그림 3-2-2>은 수질분석기간 중의 RABC SYSTEM의 하수처리 공정도와 반송유량을 나타내었으며, <그림 3-2-3>는 파일럿 플랜트 각 단위공정에서의 수질분석을 위한 시료채취지점이다.



<그림 3-2-2> RABC SYSTEM의 하수처리 공정도 및 제원



<그림 3-2-3> RABC SYSTEM에서의 시료채취지점 (①②③④⑤⑥⑦⑧)

물질수지(mass balance) 계산의 주요 인자로서 MLSS, BOD<sub>5</sub>, COD<sub>cr</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, 잉여슬러지 성상 등을 분석하였다.

<표 3-2-4>는 RABC SYSTEM의 각 단위 공정별 수질 변화이다.



<표 3-2-4> RABC SYSTEM의 각 단위 공정별 수질 변화

( 2002년 5월 데이터 평균 )

(단위: mg/ℓ)

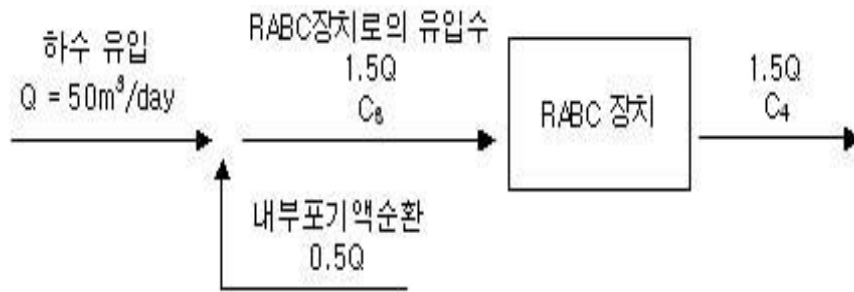
구분 \ 항목	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	PO <sub>4</sub> -P	비고
유입 원수조①	146	172	29.58	0.2	0.43	1.28	저류조에서 시료채취
RABC 1단 유출수②	16	32	20.65	0.21	2.26	1.3	
RABC 2단 유출수③	12	24.5	18.81	0.19	2.41	1.34	
RABC 3단 유출수④	8	23.5	15.05	0.25	2.70	1.38	
RABC 4단 유출수⑤	8	23.5	14.49	0.29	2.99	1.41	RABC장치 유출수
포기액⑥	8	21	9.44	0.23	5.14	2.51	MLSS(3000~ 4000mg/ℓ)
최종방류수⑦	6	20.5	2.63	0.34	6.34	1.21	
잉여슬러지⑧	12	23	2.53	0.14	1.52	2.41	반송슬러지 의 성상과 동일

※ ①②③④⑤⑥⑦은 그림 2에서의 Sampling point

#### 나. RABC 공정의 하수처리

원수저류조로부터 유입되는 하수는 생물반응조 4단의 포기액(포기액 50%)과 혼합되어 RABC장치로 유입된다. RABC장치에서는 망상형 매디아에 부착된 바실러스균 우점의 혼합균들이 하수를 처리한다. <그림 3-2-4>은 RABC장치에서의 하수처리공정 및 유량 등을 나타내었다.

물질수지의 계산인자로서 수질분석 항목 중 BOD<sub>5</sub>, COD<sub>cr</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, MLSS 등을 사용하였다. 질소성분 중 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 항목은 다소 변화하는 경향성은 있으나 총 질소분에 대하여 미소하고, SYSTEM 내에서의 변화량도 적으므로 주요 인자로써 작용하지 않음을 알 수 있다.



<그림 3-2-4> RABC 장치의 하수처리 공정도

※ Q는 유입 유량,  $C_3$ ,  $C_4$ 는 유입원수와 내부포기액 순환에 따른 RABC장치로의 유입 농도

<표 3-2-5>는 유입수가 RABC장치를 거치는 동안의 수질 변화를 나타내고 있다.

<표 3-2-5> RABC장치에서의 유량 및 수질 변화 (단위: mg/ℓ)

항 목 \ 구 분	유입원수 (저류조로부터의)	내부포기액	RABC 유입수	RABC 유출수
유량 (m³/day)	Q	0.5Q	1.5Q	1.5Q
BOD5	146	8	100	8
CODcr	172	21	121.7	23
$\text{NH}_4^+-\text{N}$	29.58	3.94	21.03	14.49
$\text{NO}_3^--\text{N}$	0.2	5.14	2	2.99
T-N	31.38	9.44	24.07	17.08
$\text{PO}_4-\text{P}$	1.28	2.51	1.69	1.41
T-P	2.37	5.24	3.33	2.53
비고			유입원수(Q)+ 내부포기액순 환(0.5Q)	"

<표 3-2-5>의 유량과 수질의 성상을 부하량으로 계산하면 <표 3-2-6>과 같다.

<표 3-2-6> RABC장치로의 부하량 및 제거량

(단위: kg/day)

항목 \ 구분	RABC유입수	RABC유출수	제거량( $\Delta$ )	비 고
BOD <sub>5</sub>	7.5	0.4	7.1	※ 부하량 계산은 RABC반응장치로 의 유입유량 × 기질 농도로 계산
COD <sub>cr</sub>	9.13	1.15	7.98	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	1.58	0.872	0.85	
NO <sub>3</sub> -N	0.15	0.15	0	
T-N	1.81	0.85	0.95	
PO <sub>4</sub> -P	0.13	0.07	0.07	
T-P	0.25	0.13	0.12	

BOD<sub>u</sub> 제거량에 대한 유입원수의 질소분의 제거는 대부분이 암모니아성 질소의 직접섭취에 의해 제거됨을 알 수 있는데, BOD<sub>5</sub>값에 1.5를 곱한 값을 BOD<sub>u</sub>라고 가정했을 경우의 제거 BOD<sub>u</sub>에 대한 각각의 제거량을 구하면 BOD<sub>u</sub> 100mg에 대하여 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N이 최고 8mg까지 제거 할 수 있음을 알 수 있다.

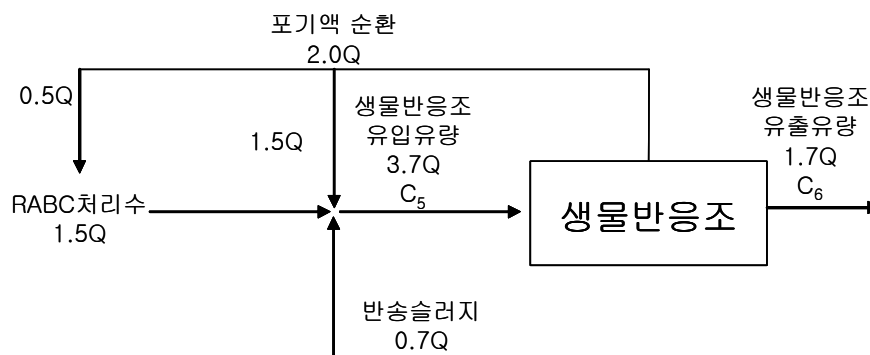
앞의 설계 제원으로부터 알 수 있듯이 현재의 RABC조는 Ø550 × 12매(양면) × 4단으로 구성되어 있고, 위의 BOD제거량으로부터 RABC조의 표면적당 부하량을 계산하면 0.32kg · BOD/m<sup>2</sup> · day이 된다. 그러나 <표 3-2-5>의 RABC SYSTEM의 각 단위 공정별 수질 변화에서도 알 수 있듯이 RABC조의 1단을 거치면서 대부분의 BOD성분이 제거됨을 알 수 있다. 따라서 BOD부하량은 Ø550 × 12매 × 4단인 550 × 12매(양면)×1단으로 산정하여 1.28kg/m<sup>2</sup> · day로 계산되는 것이 바람직할 것이다. 현재의 시스템으로의 유입수의 BOD가 200mg/ℓ 이하의 낮은 값이므로 현재의 파일럿 플랜트는 총 4단으로 이루어진 RABC장치가 다소 과다 설계되었음을 알 수 있다. 이는 RABC시스템의 높은 유기물 제거 효과를 나타내는 반증이기도 하다.

#### 다. 생물반응조의 하수처리

전단의 RABC장치를 거친 하수는 다시 생물반응조로 유입되어 표준 활성슬러지 방식으로 처리된다. 생물반응조는 4개의 단위조로 구성되었고, 제 1생물반응조에서는 RABC장치의 유출수와 생물반응조 4조의 내부포기액 반송, 그리고 침전조 하부

로부터의 반송슬러지와 합쳐져 유입되고, 유입 하수는 생물반응조 1, 2, 3, 4조를 차례로 거치면서 처리된다. 생물반응조 운전시 점감식 포기를 통해 생물 반송조의 전단에서는 바실러스균의 증식을 통해 빠른 유기물 소모를 유도하고 나머지 단에서는 바실러스균의 포자 형성을 통해 항균성 생리활성 물질의 분비 유도 및 슬러지의 침전성을 향상시키고 있다. 마지막 4단에서는 포기액 제 1단 RABC장치와 생물반응조 1조로 반송시켜 RABC장치의 생물막에서의 균체와 생물반응조의 MLSS를 유지시키고 있다.

<그림 3-2-5>는 생물반응조에서의 하수처리과정 및 유량흐름을 나타내고 있다.



<그림 3-2-5> 생물반응조에서의 하수처리 공정도

※ Q는 유입 유량,  $C_5$ ,  $C_6$ 은 RABC처리수와 내부포기액 반송, 슬러지 반송에 따른 RABC장치로의 유입 농도

생물반응조의 HRT는 5시간, 내부 순환비가 유입원수량 대비 150%로 운전되었다. MLSS는 3000~4000mg/ℓ로 운전되었고, DO의 경우 전단에서는 2mg/ℓ 이하로, 후단에서는 0.1mg/ℓ의 낮은 값으로 포기량을 조절하였다. <표 3-2-7>은 RABC장치의 유출수가 생물반응조의 각 단위 공정을 거치는 동안의 수질변화를 나타내고 있다.

<표 3-2-7> 생물반응조예의 유량 및 수질 변화

(단위: mg/ℓ)

항 목 \ 구 분	RABC처리수	내부포기액	반송슬러지	생물반응조 유입수	생물반응조 유출수
유량 (m <sup>3</sup> /day)	1.5Q	1.5Q	0.7Q	3.7Q	1.7Q
BOD <sub>5</sub>	8	8	12	8.76	6
COD <sub>cr</sub>	23	21	23	22.19	20.5
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	14.49	3.94	2.53	7.95	2.63
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	2.99	5.14	1.52	3.58	6.34
T-N	17.08	9.44	6.77	12.03	9.32
PO <sub>4</sub> -P	1.41	2.4	2.51	2.04	1.21
T-P	2.53	5.24	5.24	3.68	1.39
비 고			잉여슬러지와 성상이 동일(같은 라인에서 인출)	RABC처리수 (1.5Q)+내부 포기액순환(1 .5Q)+반송슬 러지(0.7Q)	순RABC처리 수(Q)+내부순 환+반송슬러 지(0.7Q)

<표 3-2-7>의 유량과 수질의 성상을 부하량으로 계산하면 <표3-2-8>과 같다.

<표 3-2-8> 생물반응조로의 부하량 및 제거량

(단위: kg/day)

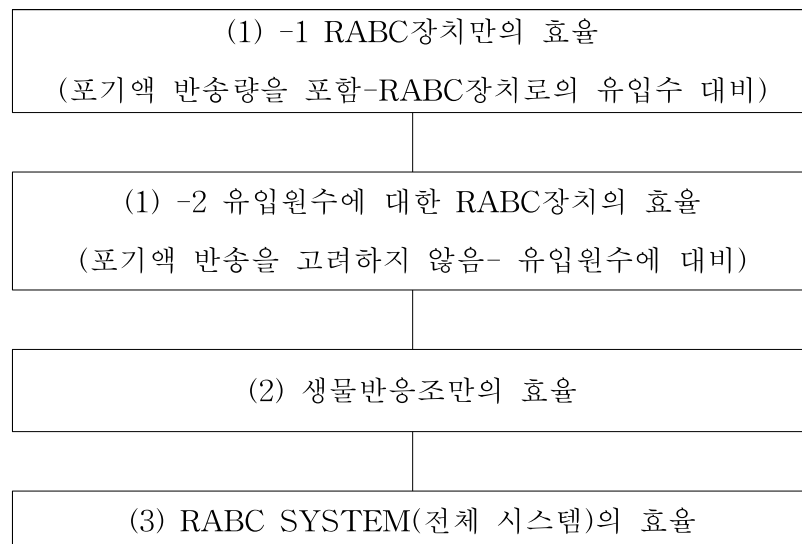
항목 \ 구분	생물반응조 유입수	생물반응조 유출수	제거량(Δ)	비 고
BOD <sub>5</sub>	1.62	1.11	0.7	※ 부하량 계산은 생물반응조로의 유입유량 × 기질 농도로 계산
COD <sub>cr</sub>	4.11	3.79	0.31	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	1.47	0.49	0.98	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	0.66	1.17	-0.51	
T-N	2.23	1.72	0.5	※ 제거량(Δ)에서 의 -부호는 증 가량을 의미
PO <sub>4</sub> -P	0.33	0.19	0.13	
T-P	0.68	0.22	0.37	

생물반응조에서의 BOD부하와 F/M비는 대표값으로 계산하여 각각  $0.156\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^3 \cdot \text{day}$ ,  $0.052\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{kg} \cdot \text{MLSS} \cdot \text{day}$ 이며, 실험 데이터의 변화범위로 계산한 결과로는 BOD부하가  $0.075 \sim 0.25\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^3 \cdot \text{day}$ 이고 F/M비가  $0.02 \sim 0.1\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{kg} \cdot \text{MLSS} \cdot \text{day}$ 의 범위를 갖는다.

생물반응조로의 유입수는 <표 3-2-8>에서도 알 수 있듯이 RABC 장치를 통하여 이미 BOD, COD성분이 대부분이 제거된 상태로 유입되기 때문에 BOD부하량이 낮다. 이는 생물반응조에서의 DO가 유기물 제거가 아닌 질산화에 기여함을 의미한다. Pilot plant 운전 상태에서 생물반응조에서의 DO가  $1.0\text{mg}/\ell$  이상일 때는 기존의 생물학적인 처리공법에서 채택하고 있는 방법으로서, 이러한 질산화가 일어나기 위해서는 많은 양의 산소를 소비하게 된다. 따라서 RABC 공정의 생물반응조내에서는 DO가  $1\text{mg}/\ell$  이하로 유지·운전되기 때문에, 질산화가 억제되는 효과가 발생하게 된다.

라. RABC 공정의 하수처리효율

RABC SYSTEM의 처리 효율을 4가지의 경우로 나누어 분석하였다.



(1) -1 RABC장치만의 효율(포기액 반송량을 포함)

<표 3-2-9> RABC장치의 하수 처리 효율(포기액 반송 포함) (단위: %)

항목	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	T-N	T-P
제거효율	92	81.1	31.1	30	23.9

(2) -2 유입원수에 대한 RABC장치의 효율(포기액 반송을 고려하지 않음)

<표 3-2-10> RABC장치의 하수 처리 효율  
(유입원수에 대한 RABC장치 유출수 대비) (단위: %)

항목	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	T-N	T-P
제거효율	94.5	86.6	51.0	45.6	- 6.8

※ - 는 증가

<표 3-2-9>과 <표 3-2-10>에서 알 수 있듯이 BOD, COD성분이 이미 RABC 장치에서 90% 이상 제거됨을 알 수 있다. 암모니아성 질소분의 제거율도 RABC장치만으로도 50% 이상을 보이고 있다. 이는 일반적인 질산화, 탈질 공정인 바실러스균의 직접접취에 의한 제거임을 알 수 있다

(3) 생물반응조만의 효율

<표 3-2-11>은 생물반응조 유입수에 대한 최종유출수의 효율을 나타내었으므로 BOD, COD의 제거효율은 큰 의미가 있지는 않다. 즉, RABC장치에서 이미 BOD, COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N등의 대부분이 제거 되었으므로 효율이 낮은 값을 갖게 된다. T-P의 제거 효율은 생물반응조에서 급격히 증가함을 알 수 있다.

<표 3-2-11> 생물반응조의 하수 처리 효율

(내부포기액 및 잉여슬러지 반송량 포함)

(단위: %)

항목	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	T-N	T-P
제거효율	31.5	7.6	66.9	22.5	62.3

#### (4) RABC SYSTEM(전체 시스템)의 효율

<표 3-2-12>는 RABC SYSTEM의 유입원수에 대한 최종유출수의 값으로부터 전체 시스템의 기질 제거 효율을 산정 하였다. 전술했듯이 유입수의 부하가 낮은 값을 고려 할 때, 낮은 부하의 유입수가 문제가 되는 하수처리장에도 문제없이 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

<표 3-2-12> RABC SYSTEM의 효율

(유입원수에 대한 최종 유출수 대비)

(단위: %)

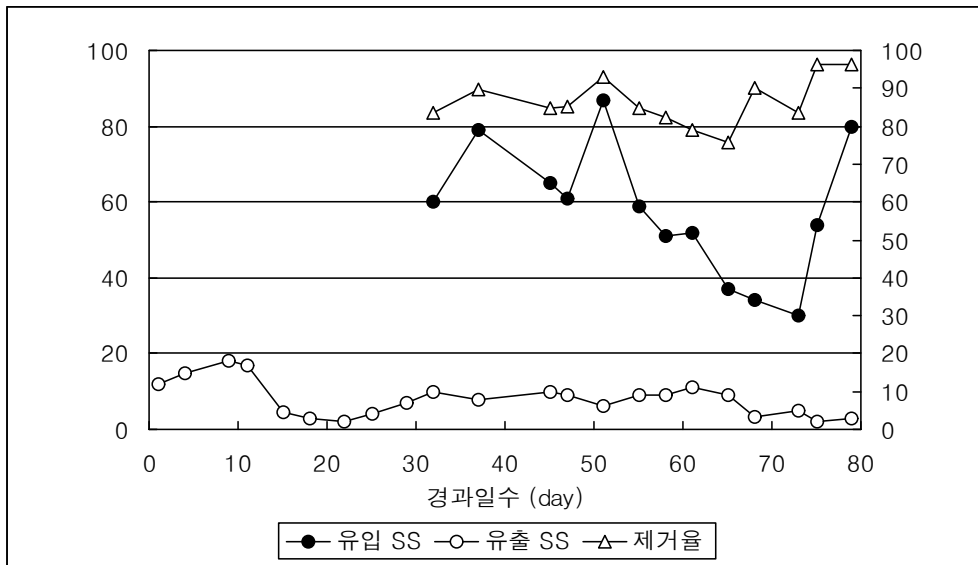
항목	SS	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	T-N	T-P
제거효율	86.3	95.9	86.6	91.1	70.3	41.4

#### 마. RABC 공정에서의 수질자료 분석

##### (1) SS분석

<그림 3-2-6>은 운전경과에 따른 SS농도 변화를 나타낸 그림으로 난지 하수처리사업소에 유입되는 하수의 평균 SS보다 다소 낮은 값을 보이고 있다. 그 이유는 파일럿 플랜트로 유입되는 파이프라인이 유입원수조로 깊숙이 투입되지 못했기 때문이다. <그림 3-2-6>에서 보듯 파일럿 플랜트로 유입되는 SS농도는 평균 50 ~ 80mg/ℓ 이고 유출수는 5~10mg/ℓ 이며 안정기 데이터에서는 대부분이 5mg/ℓ 이하의 값을 보여주고 있다.



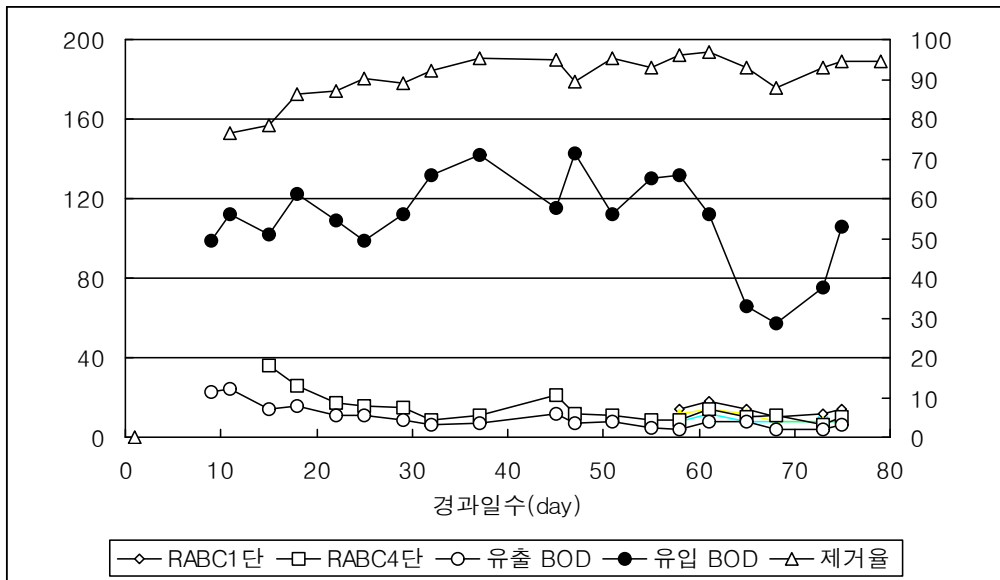


<그림 3-2-6> 운전경과일수에 따른 SS농도 변화

제거 효율에 있어서는 안정기 자료에서 90% 이상을 보여주고 있다. 파일럿 플랜트의 유출수의 SS상태는 약간의 pin-floc 현상이 있기는 하였지만, 5mg/ℓ 이하로 안정적으로 운영되었다.

## (2) BOD분석

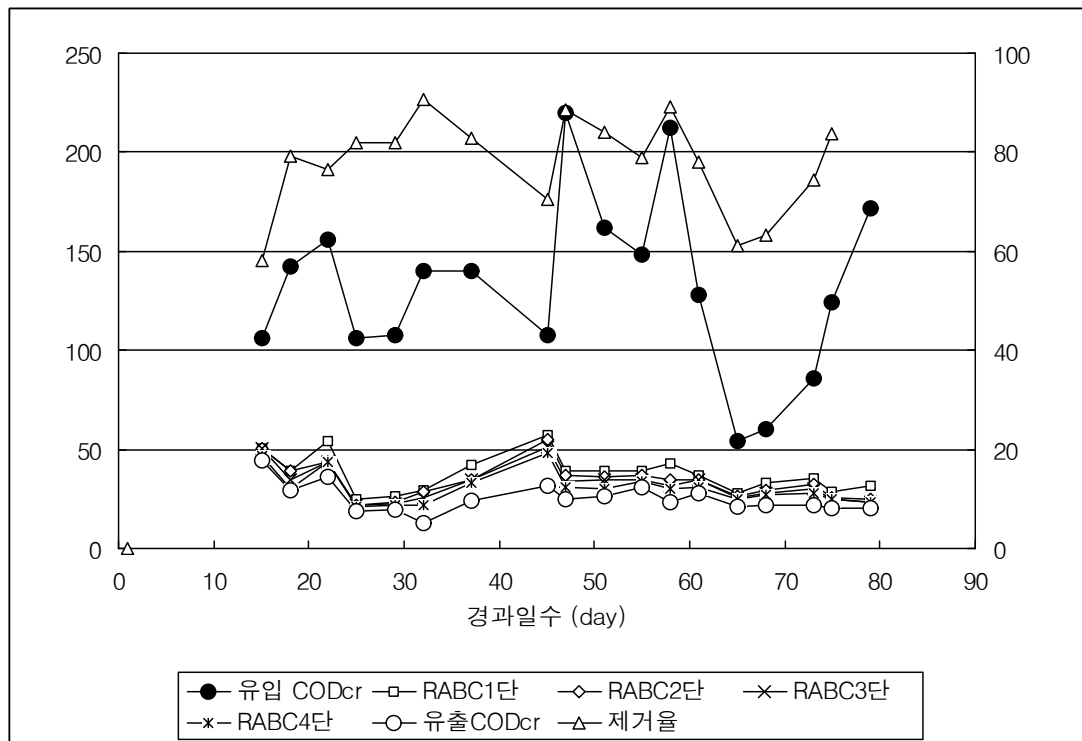
<그림 3-2-7>은 운전경과일수에 따른 각 반응조에서의 BOD농도 변화를 나타낸 그래프이다. BOD의 분석은 유입수, RABC 4단 유출수, 최종유출수로 분석을 시작하였으나 안정기 20일간의 자료에는 RABC 1단 유출수, RABC 2단 유출수, RABC 3단 유출수의 데이터도 포함되어 있다. <그림 3-2-7>에서 볼 수 있듯이 BOD가 90~150mg/ℓ의 낮은 농도로 유입되고 있으며, 우기시의 BOD성상은 초기 우수 때는 높은 값을 갖고 비가 2~3일 동안 지속될 때는 유입BOD가 50mg/ℓ까지 떨어지는 현상이 발생하기도 하였다. 안정기 데이터에 포함된 RABC 1단 유출수의 성상을 보면 알 수 있듯이 대부분의 BOD물질이 RABC 1단을 통과하며 제거되고 있으며, 최종 방류수의 BOD값은 6mg/ℓ 정도로 1차년도 방류수 목표치 10mg/ℓ 이하를 충분히 만족하고 있음을 알 수 있다.



<그림 3-2-7> 운전경과일수에 따른 BOD농도 변화

### (3) COD<sub>Cr</sub> 분석

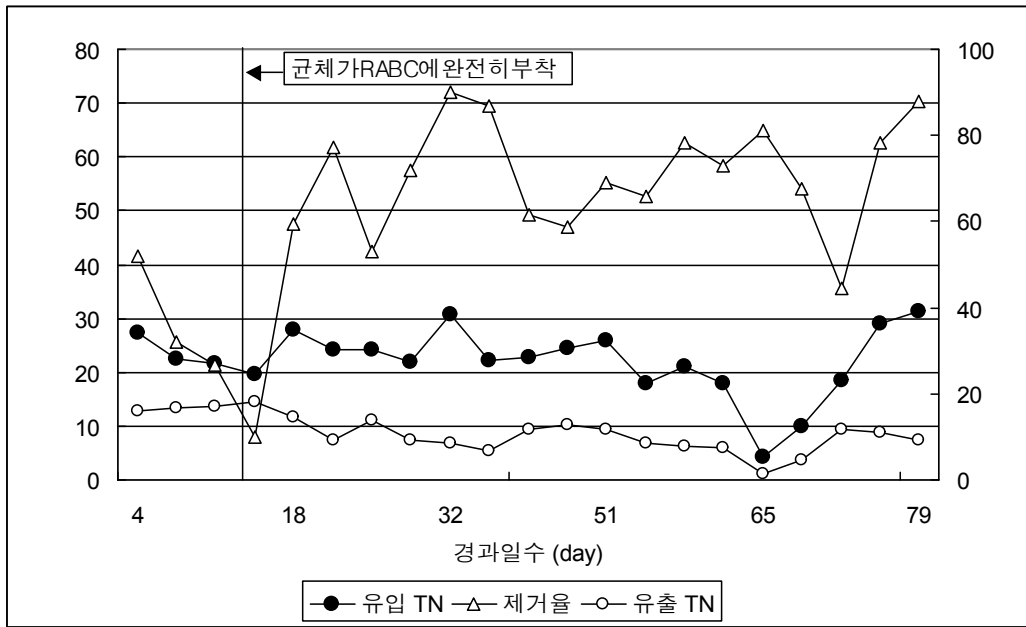
<그림 3-2-8>은 운전경과일수에 따른 COD<sub>Cr</sub>의 농도변화를 나타낸 그래프이다. BOD와 비교하여 유사한 경향성을 갖고 있으며, BOD분석 그래프에서도 확인하였듯이 대부분의 COD물질도 RABC 전단에서 이미 대부분 제거됨을 알 수 있다. 후기의 날씨에 우기가 많아 유입수의 성상에 다소 변화가 있기는 하지만, 그 처리는 안정적으로 이루어짐을 알 수 있다.



<그림 3-2-8> 운전경과일수에 따른 CODcr농도 변화

#### (4) 질소 분석

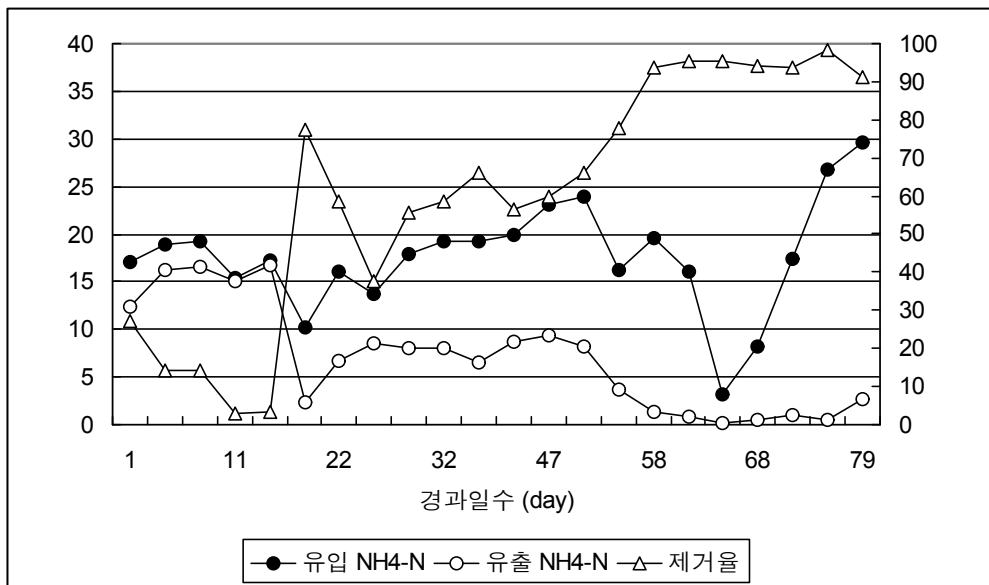
<그림 3-2-9>는 운전경과일수에 따른 TN의 농도 변화를 나타낸 그래프이다. 그림에서도 표시 하였듯이 RABC장치에 군체가 거의 안정적으로 부착된(10,000 mg/ℓ 이상)이후부터 TN의 제거 효율이 좋아지기 시작함을 알 수 있다. 유입수의 부하량이 작다는 것을 감안하여야겠지만, 약 70%이상의 제거효율을 보이고 있다. 고농도의  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  부하시 RABC장치에서의 질소제거 특성은 여타의 기존 SEIL-BC처리장에서의 실적 (표 3-1-3등 참조)을 보면, 기존의 질산화/탈질 이론만으로는 도저히 설명 할 수 없는 경이적인 탈질효율을 보이고 있으며, 따라서 일반적인 RABC장치에서의 질소수지부분은 본 보고서의 후반부에 별도로 중점 검토하고 있다.



<그림 3-2-9> 운전경과일수에 따른 TN의 농도 변화

<그림 3-2-10>은 운전경과일수에 따른  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 의 농도 변화를 나타내는 그래프이다. <그림 3-2-9>와 비교하여 유입수의 TN성분중의 대부분이 암모니아성 질소 성분임을 알 수 있다.

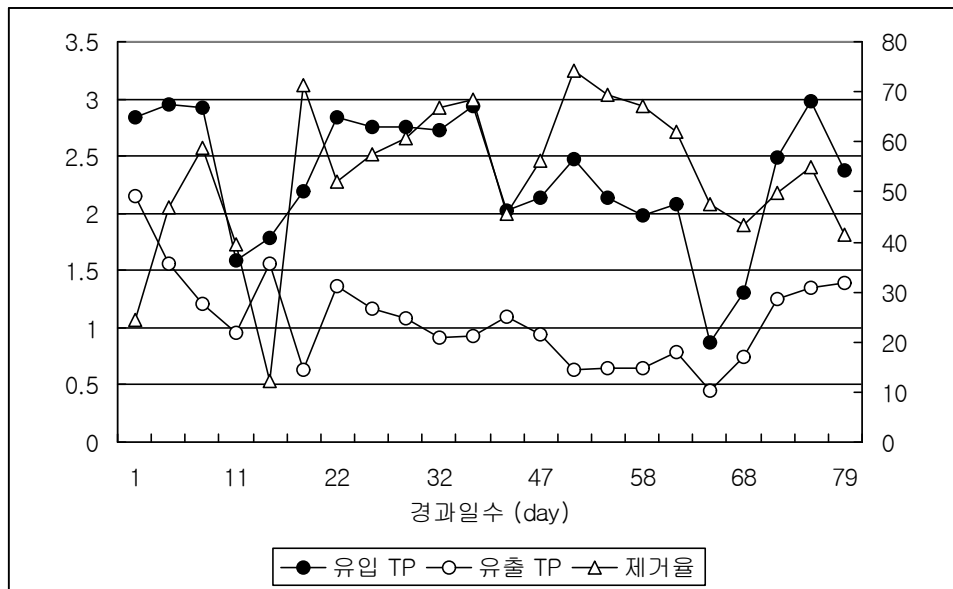
제거율에 있어서는 최근의 자료로 볼 때 최고 99%이고 평균적으로 90% 이상의 높은 제거율을 보이고 있음을 알 수 있다.



<그림 3-2-10> 운전경과일수에 따른  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 의 농도 변화

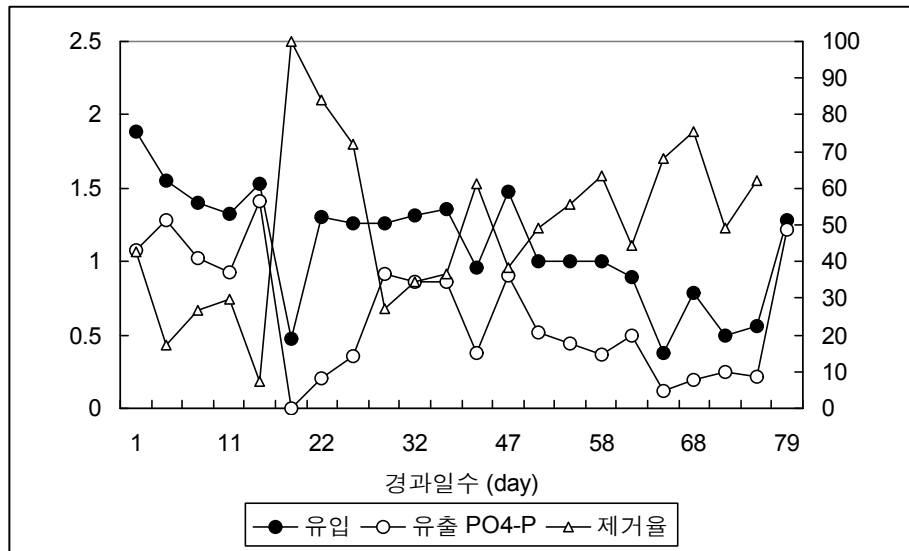
(5) 인 분석

<그림 3-2-11>은 운전경과일수에 따른 TP의 농도 변화를 나타낸 그래프이다. 유입수의 TP의 범위는 2~3mg/ℓ의 낮은 값을 보이고 있으며, 유출수와 비교하여 약 50%정도의 제거율을 보이고 있다.



<그림 3-2-11> 운전경과일수에 따른 TP의 농도 변화

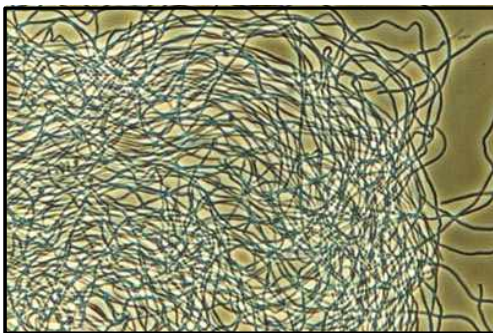
<그림 3-2-12>는 운전경과일수에 따른  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 의 농도 변화를 나타낸 그래프이다.



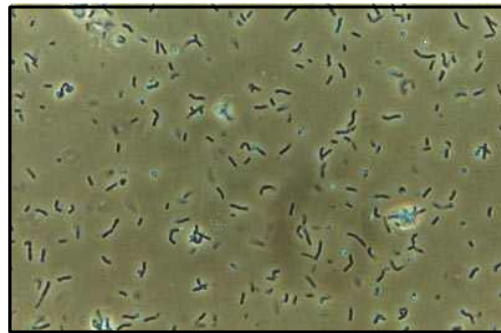
<그림 3-2-12> 운전 경과일수에 따른 PO<sub>4</sub>-P농도 변화

#### (6) RABC SYSTEM에서의 미생물 관찰

바실러스균은 영양세포로서 존재할 때는 유기물 및 질소, 인 등 영양염류가 풍부한 상태에서 대수 증식을 하면서 사상체로 되어 있다가 영양원인 유기물이 고갈되면서 빈영양상태로 되면서 생존을 위하여 세포 1개당 1개의 내생포자를 형성하면서 휴면상태에 들어가고, 유기물이 풍부해지면 발아하여 다시 영양세포로서 성장·증식을 계속하게 된다. 내생포자가 발아하여 단세포로 된 영양세포는 활발하게 움직이나 증식을 거듭하게 되면 단세포끼리 이어져 사상체를 형성하면서 움직이지 않고 고정된 상태에서 성장·증식을 계속하게 되는 특징이 있다.



<그림 3-2-13> 사상체의 바실러스

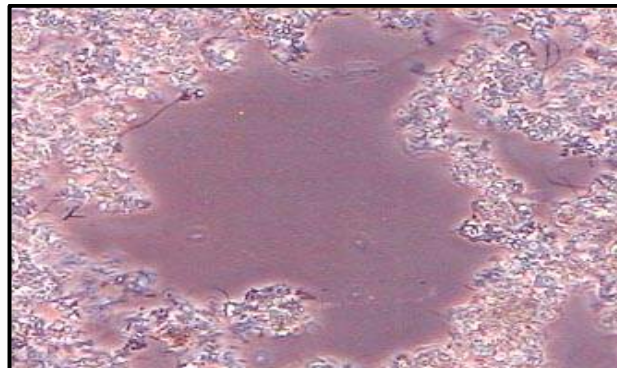


<그림 3-2-14> 바실러스의 형태

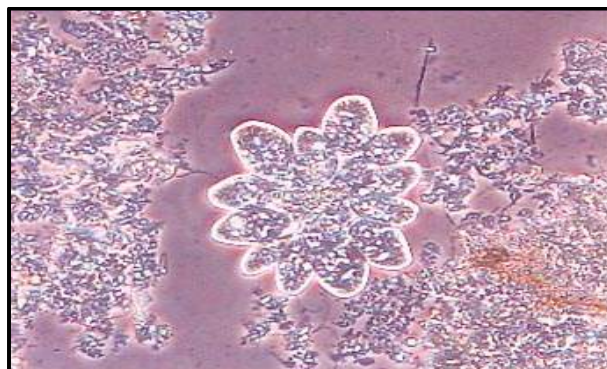
<그림 3-2-13>은 바실러스의 배양사진으로 필라멘트(filament)화 실험에서 포자

화가 이루어지고 있는 상태의 사진이다. 바실러스의 모양은 <그림 3-2-14>와 같은 단간균 형태이고 불리한 환경이 되면 포자를 만드는 그람양성의 통성혐기성세균이다.

또한, 바실러스균은 증식과 포자화를 반복하면서 우점화가 가능함을 알 수 있었고, 이 균의 증식이 일정농도 이상을 유지하면 슬러지의 침강이 향상된다는 점도 알 수 있었다. 즉, 영양분이 충분한 상태에서 이 균이 급속하게 성장하면서 사상체를 형성하면 결과적으로 영양분의 부족상태가 초래되고 이 때, 균체량을 반송비의 증가 등을 통해 오히려 늘려 주면 사상체를 형성한 개별 균체량은 더욱 심한 영양분 부족상태가 발생한다. 이 상태가 한계점에 도달하면 자기 생존을 위하여 포자를 형성하면서 사상체가 해체되어 포자를 포함한 균체수는 증가하게 되고, 이와 더불어 침강이 일어나게 된다. <그림 3-2-15>와 <그림 3-2-16>은 RABC 파일럿 플랜트에서 바실러스의 포자형성을 보여주는 사진이다.



<그림 3-2-15> 포자를 형성하는 바실러스



<그림 3-2-16> 생물반응조 활성슬러지에서의 바실러스균 및 다른 미생물

바. RABC 공정에서의 실시간 수질변동 분석

<표 3-2-13>은 난지하수처리장 파일럿 플랜트에서의 운전실적으로부터, 수온이 15℃ 이상이었던 2002년 4월 2일부터 테이터의 수질항목을 평균한 값이다.

<표 3-2-13> 수온 15℃ 이상의 RABC 파일럿 플랜트 운전실적

(2002년 4월 2일~현재, 12회 평균)

(단위: mg/ℓ)

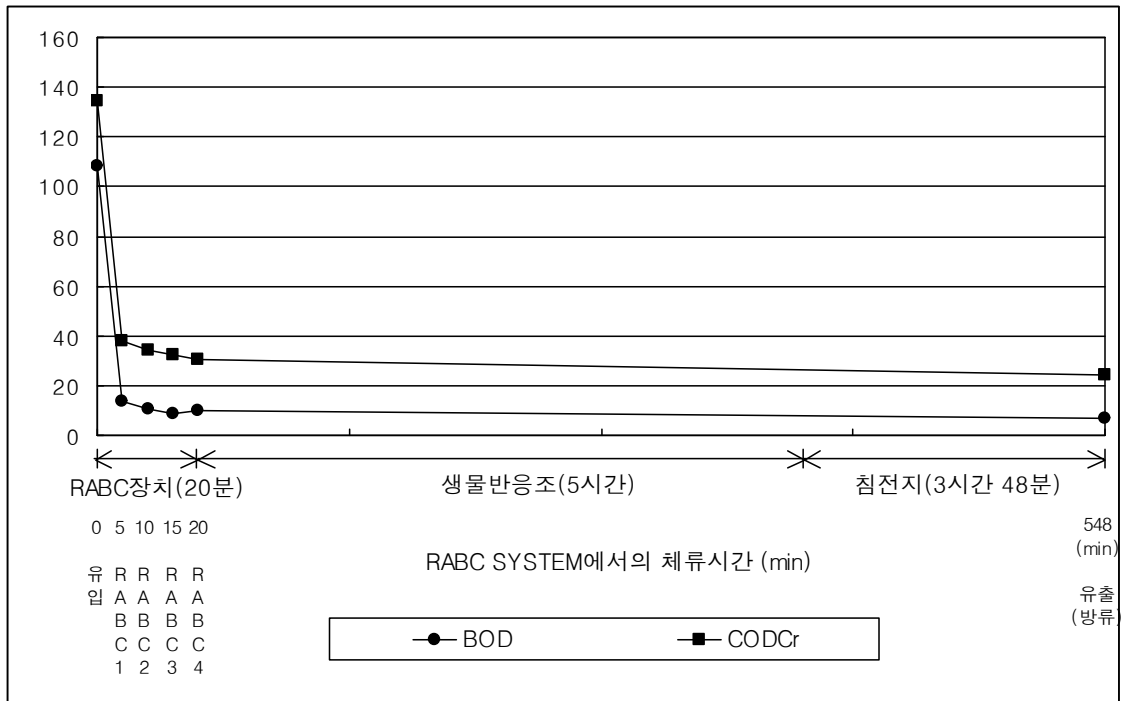
항목 \ 구분	유입수	RABC1	RABC2	RABC3	RABC4	유출	평균 제거율 (%)
BOD	108.2	13.7	10.3	8.7	10.0	6.6	93.9
COD <sub>cr</sub>	134.5	37.8	34.0	32.3	30.4	24.5	81.75
SS	57.43	-	-	-	-	8.44	85.30
T-N	20.45	14.00	12.88	12.46	11.97	8.75	57.23
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	18.61	10.45	9.60	9.11	9.06	3.59	80.74
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	0.11	0.20	0.21	0.24	0.26	0.45	-321.3
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	0.24	1.45	1.52	1.52	1.63	3.92	-1514
T-P	2.15	1.63	1.52	1.62	1.70	0.82	61.75
PO <sub>4</sub> -P	1.94	0.93	0.87	0.86	0.84	0.50	48.26

※ 평균제거율 항목에서 -는 증가를 의미.

(1) 유기물 분해능 실시간 변동 분석

<그림 3-2-17>은 <표 3-2-13>에서 BOD, COD<sub>cr</sub>의 제거능을 실시간으로 분석한 그래프이다. RABC장치는 4단으로 이루어져 있고, 각 단에서의 체류시간은 약 5분으로 RABC장치에서의 총 체류시간은 20분 내외이다. 그래프에서 알 수 있듯이 BOD의 제거 능력은 RABC장치의 1단에서 이미 85%이상의 제거율을 지니는 결과를 보여주고 있다.

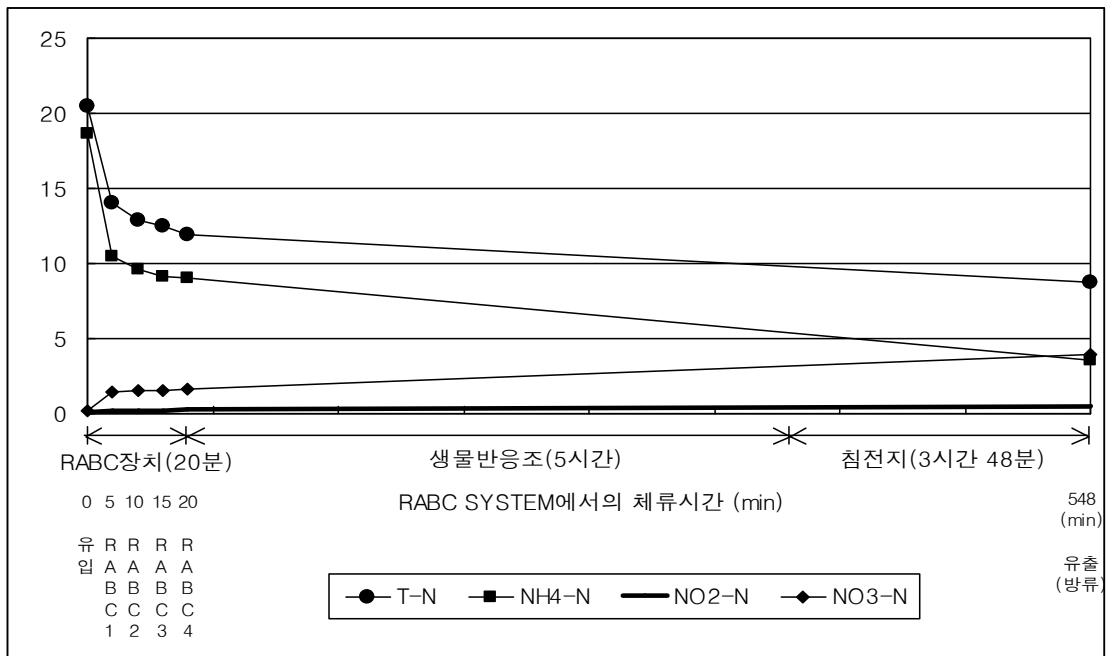




<그림 3-2-17> 유기물 분해능의 실시간 분석 그래프(BOD, COD<sub>Cr</sub>)

(2) 질소 제거능 실시간 변동 분석

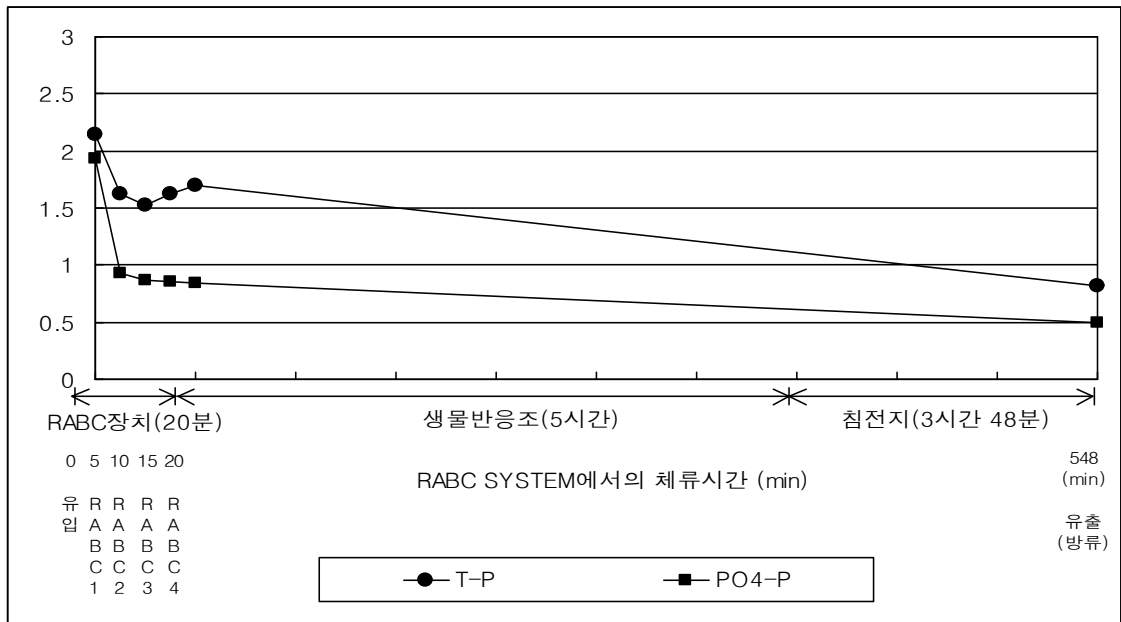
<그림 3-2-18>은 <표 3-2-13>로부터 T-N, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N의 제거능을 실시간으로 분석한 그래프이다. 유입T-N의 대부분이 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N로 존재하고 있으며 그 처리 상태는, T-N의 평균제거율 57%중 40%이상이 RABC장치 전단에서 이루어지고 있음을 알 수 있다. 그러나 이러한 효율이 생물반응조에서의 암모니아성 질소의 제거능이 작음을 의미하는 것은 아니다. 그래프에서도 알 수 있듯이 RABC 장치뿐만 아니라 생물반응조에서도 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N의 제거는 계속되고 있지만, 생물반응조에서의 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N의 증가가 전체 T-N제거효율을 감소시키는 역할을 하고 있다. 이러한 문제는 파일럿 플랜트 운영상에서 포기량의 과다를 그 원인으로 지적할 수 있고, 조 내의 DO를 조절함으로써 문제를 해결할 수 있다.



<그림 3-2-18> 질소 제거능의 실시간 분석 그래프

### (3) 인 제거능 실시간 변동 분석

<그림 3-2-19>는 <표 3-2-13>로부터 T-P, PO<sub>4</sub>-P의 제거능을 실시간으로 분석한 그래프이다.



<그림 3-2-19> 인 제거능의 실시간 분석 그래프

### 3. 실증 플랜트(Full-scale) RABC 공정

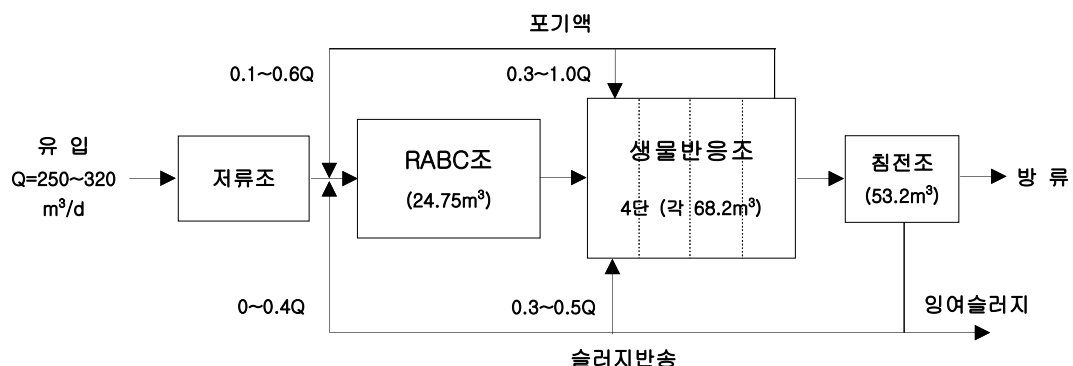
#### 가. 공정 분석 및 단위 공정별 수질 분석

RABC SYSTEM의 운전상태와 처리효율을 산정하기 위해 통복하수처리장에 설치된 실증 플랜트에서 Sampling하여 각 수질분석 항목에 대해 실험하였다. 본 실험에서 측정된 분석항목은 유기물의 제거효율을 판단하기 위해 BOD, SS 및  $COD_{Mn}$ 을 측정하였으며, 영양염류의 제거효율을 판단하기 위해 T-N과 T-P를 측정하였다. <표 3-2-14>에 실험항목 및 분석방법을 나타내었다.

<표 3-2-14> 실험항목 및 분석방법

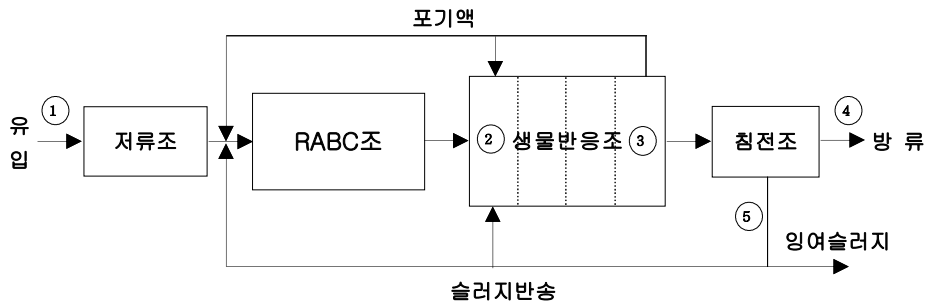
분석항목	분 석 방 법	비 고
SS	GF/C 여과 후 건조시켜 무게측정	환경오염공정시험법
BOD	Azide modification method	
$COD_{Mn}$	100℃ 과망간산칼륨법	
T-N	전처리한 후 흡광도법으로 측정	
T-P	전처리한 후 흡광도법으로 측정	
DO, MLSS, pH	-	

실증 플랜트 RABC 공정의 하수처리 계통도를 <그림 3-2-20>에 나타내었으며, <그림 3-2-21>는 실증 플랜트 각 단위공정에서의 수질분석을 위한 시료채취지점이다.



<그림 3-2-20> RABC SYSTEM의 하수처리 공정도 및 제원

포기액 순환은 0.1~0.6Q 와 0.3~1.0Q 정도로 각각 RABC조와 생물반응조1단으로 순환시켰다. 침전조에서 슬러지 반송은 유입량 대비 0.3~0.5Q 와 0~0.4Q로 RABC조와 생물반응조1단으로 반송 운전하였다.



<그림 3-2-21> RABC SYSTEM에서의 시료채취지점 (①②③④⑤)

SS, BOD<sub>5</sub>, COD<sub>Mn</sub>, T-N, T-P 항목의 수질분석을 위해서 채취지점 ①과 ④에서 채수하여 분석하였으며, 생물반응조의 1단과 4단에 해당하는 채취지점 ②와 ③지점에서는 MLSS, SV30, DO, 수온, pH등의 운전인자 항목을 통하여 생물반응조에서의 운전상태를 확인하였다.

실증 플랜트로 유입되는 유입원수의 유량과 성상을 <표 3-2-15>에 나타내었다. 본 공정으로 유입되는 하수의 성상을 단계적으로 변화시켜 유입 부하량에 따른 처리효율을 판단하였다.

<표 3-2-15> RABC SYSTEM으로의 단계별 유입원수 변화

구 분	1단계	2단계	3단계	4단계	5단계	6단계	비 고
기 간	02. 6. 21 ~ 6. 23	02. 6. 24 ~ 7. 1	02. 7. 2 ~ 10. 4	02. 10. 5 ~ 03. 3. 3	03. 3. 4 ~ 3. 31	03. 4. 1 ~ 4. 25	2,3단계 : 순수하수 4단계 : 하수+분뇨 혼합(1차침전후) 5단계 : 하수+분뇨+탈수슬러지 여액 (직접유입) 6단계 : 하수+분뇨+탈수슬러지 여액 사여과 유출)
유입량 (m <sup>3</sup> /d)	-	150	300	300	300	300 (사여과 공정)	

나. RABC 공정의 하수처리

RABC SYSTEM으로 유입되는 하수의 성상변화에 따라 RUN 1~3으로 나누어 Data를 분석하였다. 유입수의 성상변화에 따른 단계별 세부사항은 <표 3-2-16>에 나타내었다. <표 3-2-17>은 단계별 측정항목의 평균농도 및 수질변화를 정리하여 나타낸 것이다.

<표 3-2-16> 유입수 변화에 따른 단계별 구분

구 분	RUN 1	RUN 2	RUN 3
적용기간	02. 7. 2 ~ 10. 4	02. 10. 5 ~ 03. 3. 3	03. 3. 4 ~ 4. 25
경과일수	1일 ~ 18일	19일 ~ 83일	84일 ~ 89일
세부내용	일반하수	일반하수+분뇨 (유입유량의 1%) 혼합 (1차 침전 후 간헐투입)	일반하수+분뇨(유입 유량의 1%)+탈수여액(유입 유량의 0.5 %) 혼합 (직접투입)

<표 3-2-17> 단계별 측정항목의 평균 농도 및 수질변화

(단위:mg/ℓ)

구 분			RUN 1	RUN 2	RUN 3
SS	유 입	평 균	102.7	100.1	263.0
		최 대	274.3	186.7	623.0
		최 소	52.0	58.0	117.0
	유 출	평 균	4.9	6.6	14.1
		최 대	10.8	11.0	44.0
		최 소	2.4	2.0	5.5
BOD <sub>5</sub>	유 입	평 균	102.3	104.2	195.8
		최 대	168.3	140.0	281.3
		최 소	62.3	59.9	45.7
	유 출	평 균	8.4	7.3	23.4
		최 대	13.3	16.0	45.0
		최 소	3.2	4.4	10.0
COD <sub>Mn</sub>	유 입	평 균	38.5	47.3	194.0 (COD <sub>cr</sub> )
		최 대	62.0	76.1	296.0 (COD <sub>cr</sub> )
		최 소	21.3	22.7	48.0 (COD <sub>cr</sub> )
	유 출	평 균	7.8	7.3	22.9 (COD <sub>cr</sub> )

		최 대	9.3	10.4	42.0 (COD <sub>cr</sub> )
		최 소	5.2	5.2	9.6 (COD <sub>cr</sub> )
TN	유 입	평 균	33.6	46.6	50.8
		최 대	49.5	70.4	72.8
		최 소	24.5	26.1	38.2
	유 출	평 균	15.2	10.7	22.1
		최 대	27.6	16.9	33.2
		최 소	9.3	8.2	11.2
TP	유 입	평 균	3.0	4.4	6.5
		최 대	4.3	6.9	14.3
		최 소	2.3	1.6	3.2
	유 출	평 균	1.4	1.5	2.3
		최 대	1.8	1.8	5.4
		최 소	1.2	1.2	0.6

다. RABC 공정에서의 하수처리효율

<표 3-2-18>은 RABC SYSTEM에서의 처리효율을 각 수질항목에 대하여 정리한 것이다. T-하수처리장에서의 실증 플랜트 규모의 RABC SYSTEM을 운전한 결과 <표 3-2-18>에 나와 있듯이 각 수질항목에 대하여 만족할 만한 제거효율을 얻을 수 있었다.

<표 3-2-18> RABC SYSTEM에서의 하수처리효율

(유입원수에 대한 최종 유출수 대비)

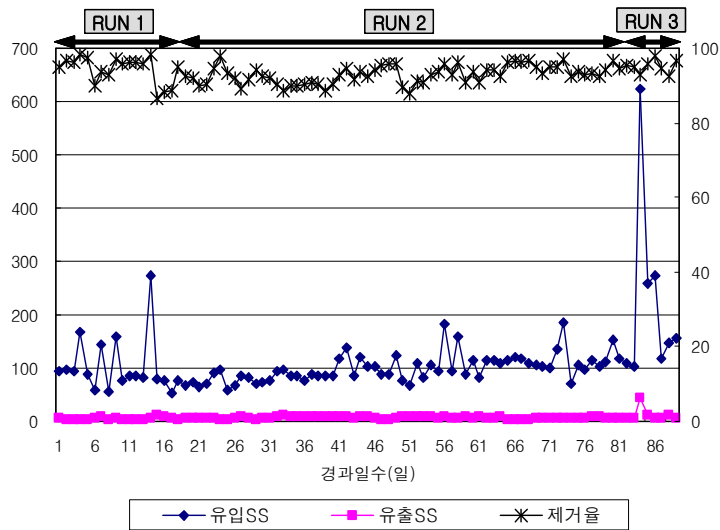
(단위: %)

항목	SS	BOD <sub>5</sub>	COD <sub>cr</sub>	T-N	T-P
제거효율	96.0	94.0	86.5	79.0	70.0

라. RABC 공정에서의 수질자료 분석

(1) SS분석

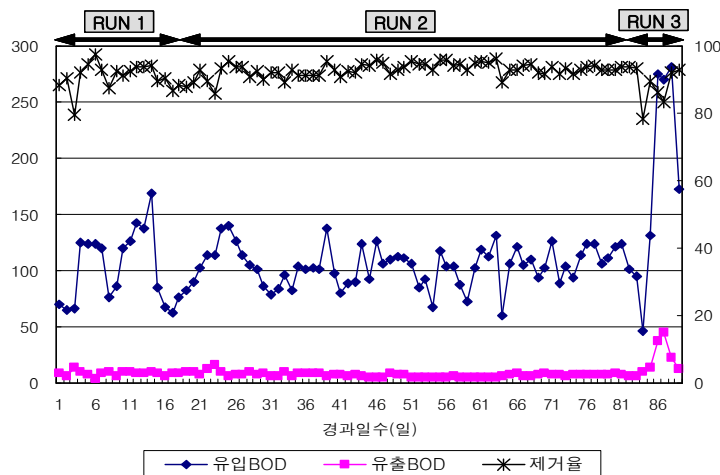
<그림 3-2-22>는 운전경과에 따른 SS농도 변화를 나타낸 것이다. RUN 1과 RUN 2 기간동안에는 평균 100mg/ℓ 정도의 저농도의 SS가 본 공정에 유입되었으나 일반하수와 분뇨의 혼합수가 1차 침전과정을 거치지 않고 직접 투입되는 RUN 3 기간에는 평균 263mg/ℓ의 고농도 SS가 유입되었다. 그 결과 RUN 3기간의 제거효율이 RUN 1과 RUN2 보다는 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 RUN 3기간을 포함한 전 기간동안의 평균 제거율은 95%를 상회하는 높은 처리효율을 나타내었다.



<그림 3-2-22> 운전경과일수에 따른 SS 농도변화 및 제거율변화

## (2) BOD<sub>5</sub> 분석

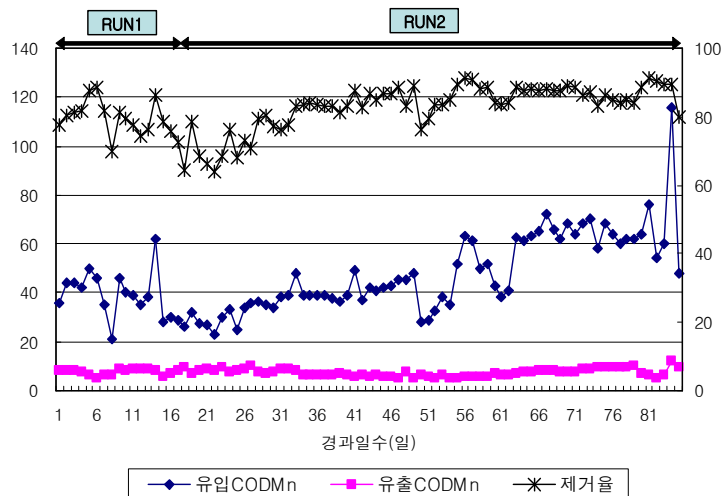
<그림 3-2-23>에 운전경과에 따른 BOD 농도변화와 제거율을 나타내었다. RUN 1과 RUN 2기간동안에는 평균 BOD가 약 110mg/ℓ 정도로 저농도의 BOD가 유입되었는데 유출수의 평균 BOD는 7.9mg/ℓ로 유지되었다. 이 기간동안의 평균 제거율은 92%로 높은 BOD 제거효율을 나타내었지만 본 처리공정의 BOD 목표수질인 5mg/ℓ을 만족시키지는 못하였다. RUN 3에서는 유입원수의 성상변화로 인하여 급격하게 유입수의 BOD 농도가 증가하였으며 그에 따라 BOD 제거효율도 다소 감소하는 경향을 보였다.



<그림 3-2-23> 운전경과일수에 따른 BOD 농도변화 및 제거율변화

### (3) COD<sub>Mn</sub> 분석

<그림 3-2-24>는 운전경과에 따른 COD<sub>Mn</sub>의 농도변화 및 제거율을 나타낸 그림이다. 분뇨가 투입되는 기간인 RUN2기간에는 유입수의 COD<sub>Mn</sub> 농도가 전반적으로 상승하였다. RUN 2기간동안에는 유출수의 COD<sub>Mn</sub>이 7.3mg/ℓ 을 나타내었고, RUN 3기간에는 COD측정법을 중크롬산칼륨법으로 바꾸어 측정한 이유로 본 그래프에 나타내지는 않았으나 유출수의 농도가 22.9mg/ℓ 로 분뇨 투입으로 인해 유출수의 농도가 증가하는 추세를 나타내었다.

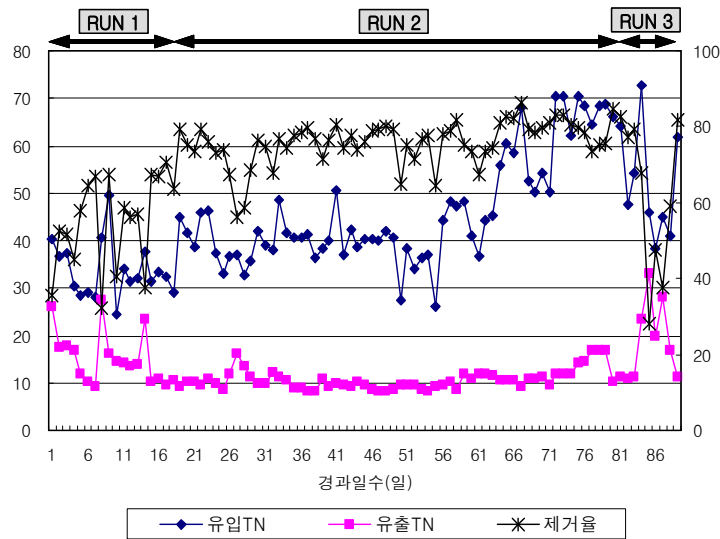


<그림 3-2-24> 운전경과일수에 따른 COD<sub>Mn</sub> 농도변화 및 제거율변화

### (4) T-N 분석

<그림 3-2-25>는 운전경과에 따른 T-N 농도변화 및 제거율의 관계를 나타낸 그래프이다. 유입수의 T-N농도는 38~58mg/ℓ 로 평균 45mg/ℓ 로 측정되었다. 유입수의 정상변화가 심한 RUN 3기간동안에는 제거효율이 다소 감소하였으나 사여과 시설이 설치되는 시점을 기준으로 다시 제거효율이 RUN 1과 RUN 2기간동안의 수준으로 회복되었다. 사여과 시설을 갖춘 후에는 4 mg/ℓ (21%)의 감소효과를 얻을 수 있었으나 본 처리공정의 목표수질인 5mg/ℓ 부근까지 유출수의 농도를 낮추는 데에는 어려움이 있었다.

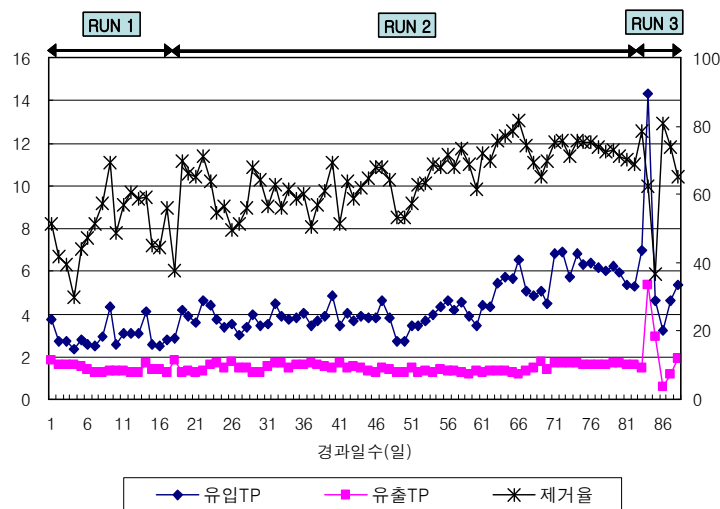




<그림 3-2-25> 운전경과일수에 따른 T-N 농도변화 및 제거율변화

#### (5) T-P 분석

<그림 3-2-26>에 운전경과에 따른 T-P 농도변화 및 제거율 변화를 나타내었다. RUN 1과 RUN 2 기간동안의 유입수의 평균 T-P농도는 약  $5\text{mg}/\ell$  이고, 유출수의 평균 T-P농도는  $1.9\text{mg}/\ell$  로 나타났다. 유입수의 성상이 급격하게 변하는 RUN 3기간동안에는 유출수의 인 농도가 크게 높아졌으나 사여과 시설을 갖춘 후에는  $0.6\text{mg}/\ell$  (36%)의 감소효과를 얻을 수 있었으나 본 공정의 인 목표수질인  $0.5\text{mg}/\ell$  부근까지 유출수의 인 농도를 낮게 운전하는 데에는 어려움이 있었다.

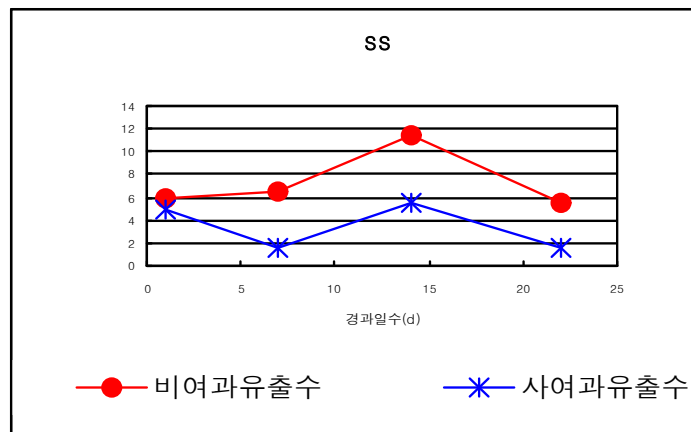


<그림 3-2-26> 운전경과일수에 따른 T-P 농도변화 및 제거율변화

(6) 사여과 공정에 대한 실험결과(2003. 4.1 ~ 4.25)

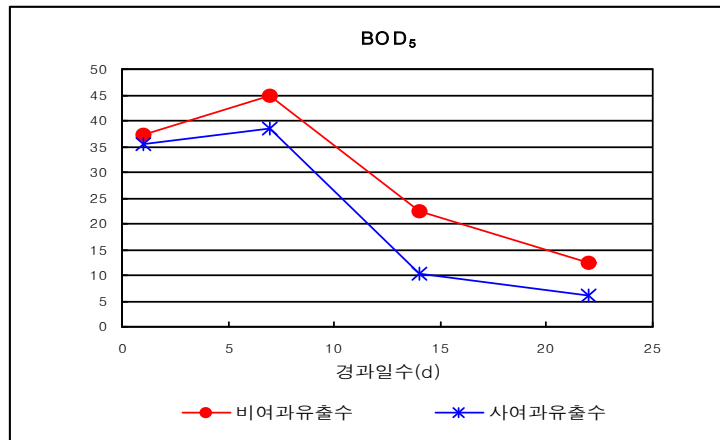
BOD, T-N, T-P 수질항목의 경우 2차년도 최종목표수질은 각각  $5\text{mg}/\ell$ ,  $5\text{mg}/\ell$ ,  $0.5\text{mg}/\ell$  이었으나 본 RABC SYSTEM만으로는 안정적으로 목표수질에 달성하기에 무리가 있다고 판단되었기에, 초고도 처리를 위하여 RABC SYSTEM의 후단에 사여과 공정을 설치하였다. 본 사여과 공정은 계획여과량  $15\text{m}^3/\text{일}$ , 여과속도  $120\text{m}^3/\text{m}^2/\text{일}$ (원통형, 직경 40cm)의 중력식 여과법을 사용하였다. 지지층으로 직경 3~25mm의 자갈을 30cm의 깊이로 설치한 후 유효경 약 0.6mm의 모래를 70cm의 여층 깊이로 탑재하였다. 여과지 하부집수장치는 Strainer형을 사용하였고, 여과지의 역세는 비여과 처리수를 사용하여 펌프에 의한 압력수를 사용하였다.

본 공정에서 처리된 유출수를 대상으로 사여과 공정을 거친 후 방류되는 최종유출수에 대한 각 항목별 실험결과를 <그림 3-2-27>에서 <그림 3-2-31>과 같이 정리하였다. 공정의 적용기간이 짧아 측정 자료가 부족하여 정확한 결과를 도출하기에는 어려움이 있지만 대체적인 경향을 알 수 있었다.



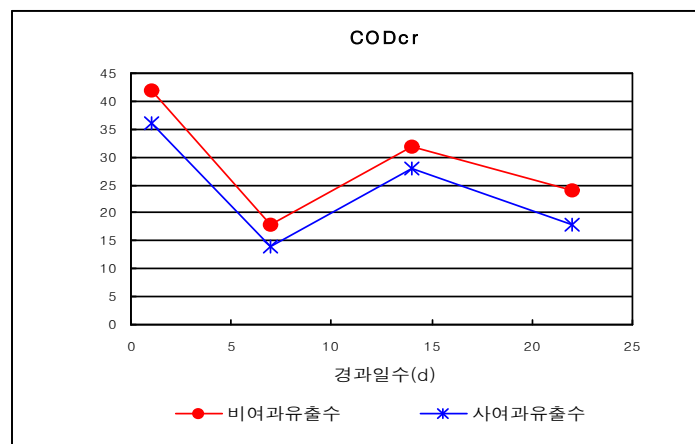
<그림 3-2-27> SS 변화곡선

사여과 유출수는 비여과 유출수에 비해 SS의 경우 평균  $4\text{mg}/\ell$  정도 낮게 측정되었고, 이는 54%정도의 감소효과를 갖는 것이다. 사여과시설을 갖춘 후의 유출수의 SS농도는 <그림 3-2-28>에 나타나 있듯이  $2\text{mg}/\ell$  까지 가능하였다.



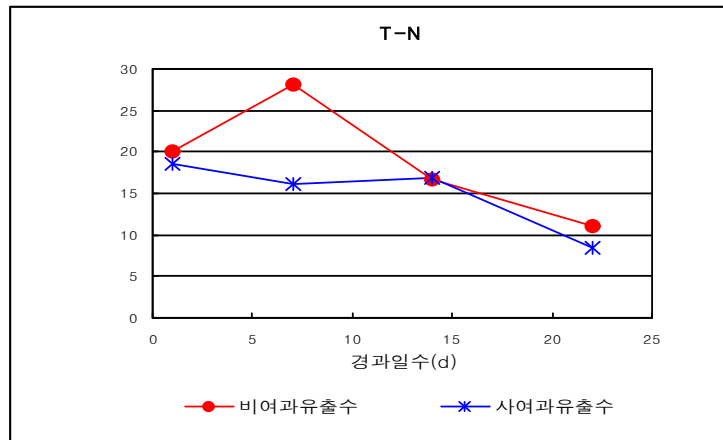
<그림 3-2-28> BOD 변화곡선

BOD는 평균 6.5mg/ℓ 정도 낮게 측정되었으며, 23%정도의 감소효과를 보였다. 그러나 사여과 유출수의 BOD농도는 최종목표수질인 5mg/ℓ 의 농도로 유출수의 BOD농도를 유지하는 데에는 다소 무리가 따른다는 사실을 알 수 있었다.

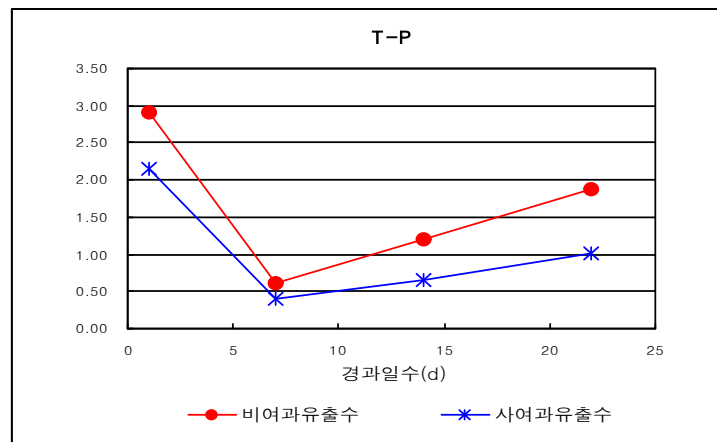


<그림 3-2-29> COD<sub>cr</sub> 변화곡선

COD의 경우 기존의 과망간산칼륨법 대신에 중크롬산칼륨법을 이용하여 측정하였다. COD<sub>cr</sub>의 경우는 사여과 유출수의 경우가 비여과 유출수보다 17%에 해당하는 5mg/ℓ 정도 감소시키는 효과를 나타내었다.



<그림 3-2-30> T-N 변화곡선



<그림 3-2-31> T-P 변화곡선

T-N과 T-P의 경우는 사여과 시설을 갖춘 후 각각  $4\text{mg}/\ell$  (21%),  $0.6\text{mg}/\ell$  (36%)의 감소효과를 갖는 것으로 조사되었다. 사여과 시설을 설치후의 실험결과를 놓고 볼 때 이러한 악조건에서의 처리시는 사여과시설을 부가적으로 설치하더라도 T-N, T-P 각각  $5\text{mg}/\ell$ ,  $0.5\text{mg}/\ell$ 의 최종목표수질을 달성하기에는 다소 어려움이 따른다는 사실을 확인할 수 있었다.

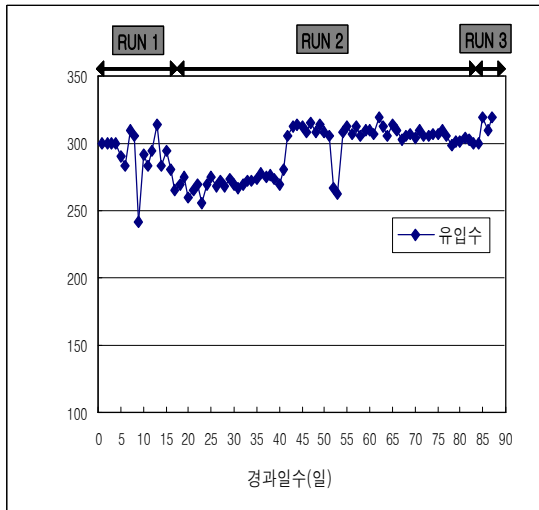
이상의 사여과 설치후의 결과를 통하여 RABC 공정을 하수의 초고도처리공정에 이용하기 위하여 사여과 시설을 설치하는 것은 BOD, T-N, T-P의 농도를 추가적으로 낮추게 되어, 분뇨의 별도주입이 없는 일반하수를 대상으로 하는 경우 안정적으로 강화된 하수처리장 방류수 수질기준을 지킬 수 있는 확신이 있으나, 본 연구

의 최종목표수질에 도달하는 데에는 어려움이 있음을 알 수 있었다. 생물학적 초고도처리를 통한 최종목표수질의 달성은 통상의 공정구성으로는 어렵다는 결론이며, 설계 부하량을 크게 낮추거나, 아니면 막공법과 같은 물리·화학적 공법의 사용이 불가피할 것으로 판단되었다.

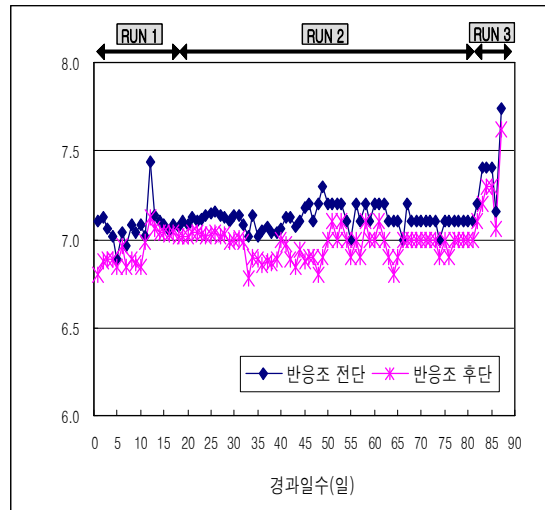
#### (7) 생물반응조에서의 운전인자 분석

생물반응조에서 운전경과일수에 따른 각 단계별 운전인자를 <그림 3-2-32>에서 <그림 3-2-39>에 도시하였다. 반응조로 유입되는 평균유량은  $290\text{m}^3/\text{d}$ 이고, 반응조 전단의 평균 pH는 7.1, 후단은 pH 7.0으로 큰 차이는 없었다.  $SV_{30}$ 은 운전경과 45일 전까지 평균 25%를 유지하였으나, 45일 이후부터 급격히 증가하였다. 이것은 MLSS농도의 증가가 거의 없었던 점으로 보아 분뇨의 혼합투입으로 인한 F/M비와 영양염류 등의 변화로 인해 슬러지의 침강성이 저하되어 높은  $SV_{30}$ 을 나타낸 것으로 생각된다. 또한  $SV_{30}$ 와 MLSS와의 관계로부터 SVI를 구해 보면 운전경과 45일부터 증가하기 시작해 한때 200을 넘는 경우가 발생하였다. 이러한 결과로 미루어 보면 슬러지 팽화(sludge bulking) 현상이 발생할 우려가 있기 때문에 이에 대한 대비책을 강구해야 할 것이다.

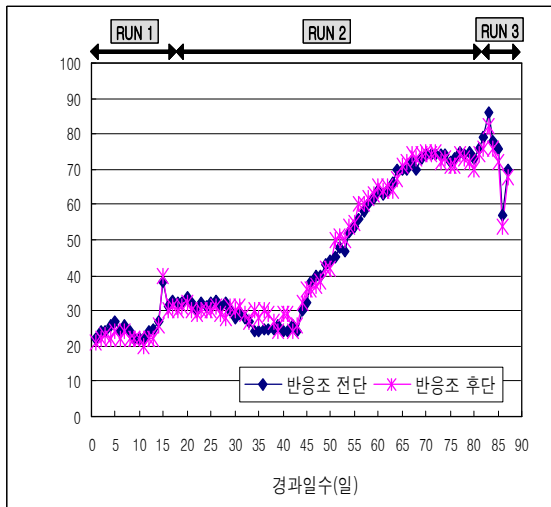
한편, 반응조 전단에서의 DO농도는 평균  $1.2\text{mg}/\ell$  이고, 후단에서의 평균 DO농도는  $0.1\text{mg}/\ell$  로서 점감포기 방식으로 DO가 적절히 조절되고 있었다. 반응조 내의 수온변화는 운전경과일수가 지날수록 감소하였는데 이는 계절적인 이유로 인해 유입수의 수온이 감소하였기 때문이다. 그러나 수온의 감소로 인한 유기물과 영양염류의 제거효율의 감소영향은 거의 없었다.



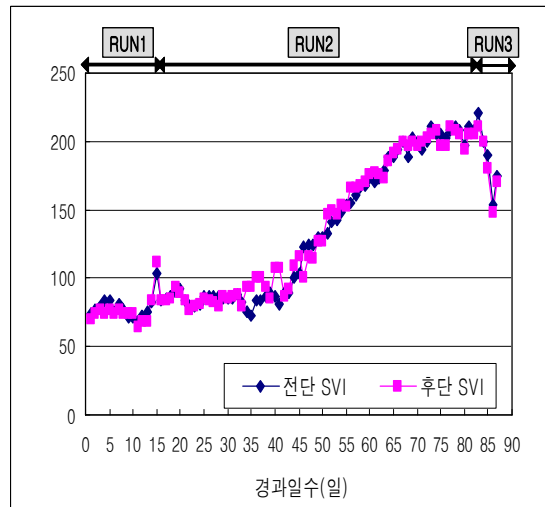
<그림 3-2-32> 유입유량 변화



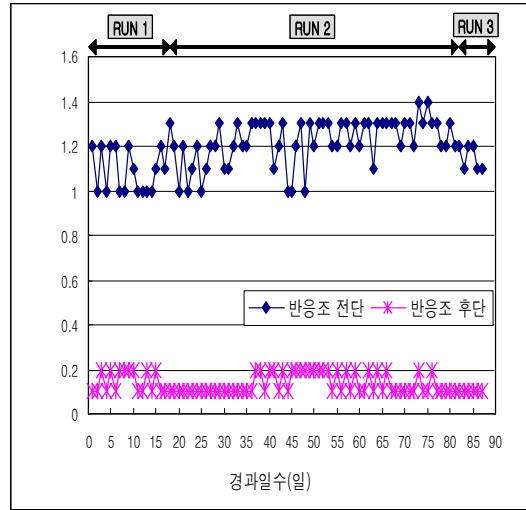
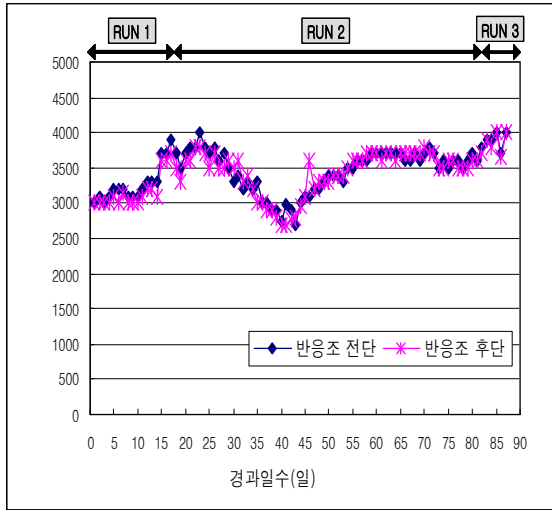
<그림 3-2-33> 생물반응조의 pH변화



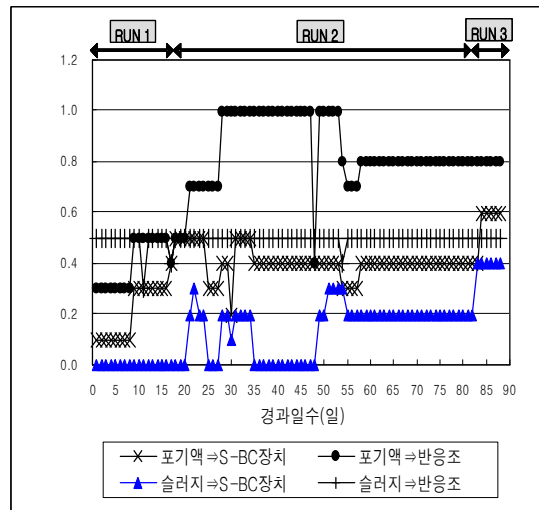
<그림 3-2-34> 생물반응조의  $SV_{30}$  변화



<그림 3-2-35> 생물반응조의 SVI 변화



<그림 3-2-36> 생물반응조의 MLSS농도 변화 <그림 3-2-37> 생물반응조의 DO농도 변화

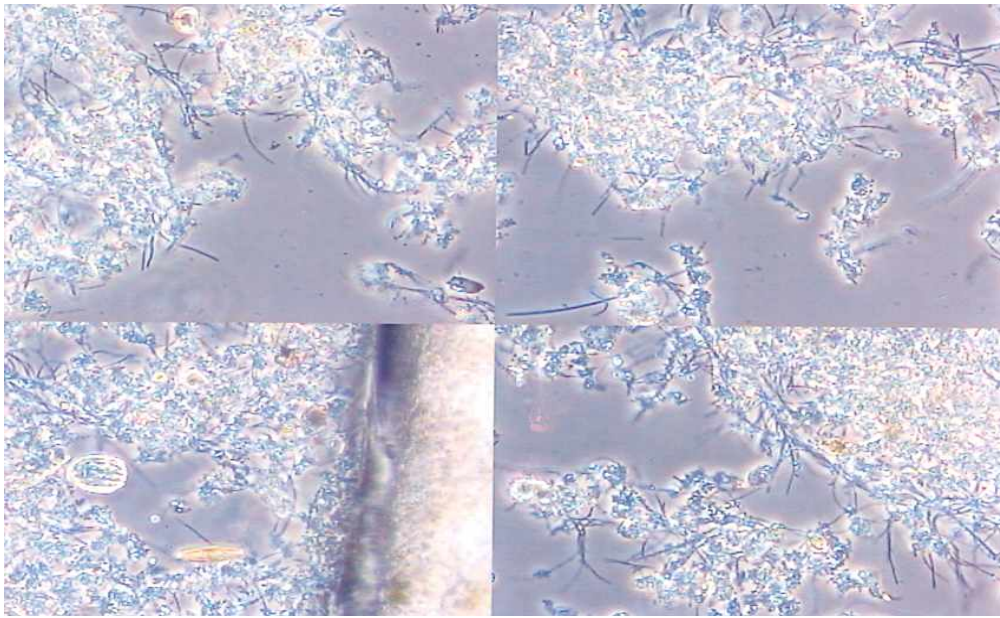


<그림 3-2-38> 생물반응조의 수온변화

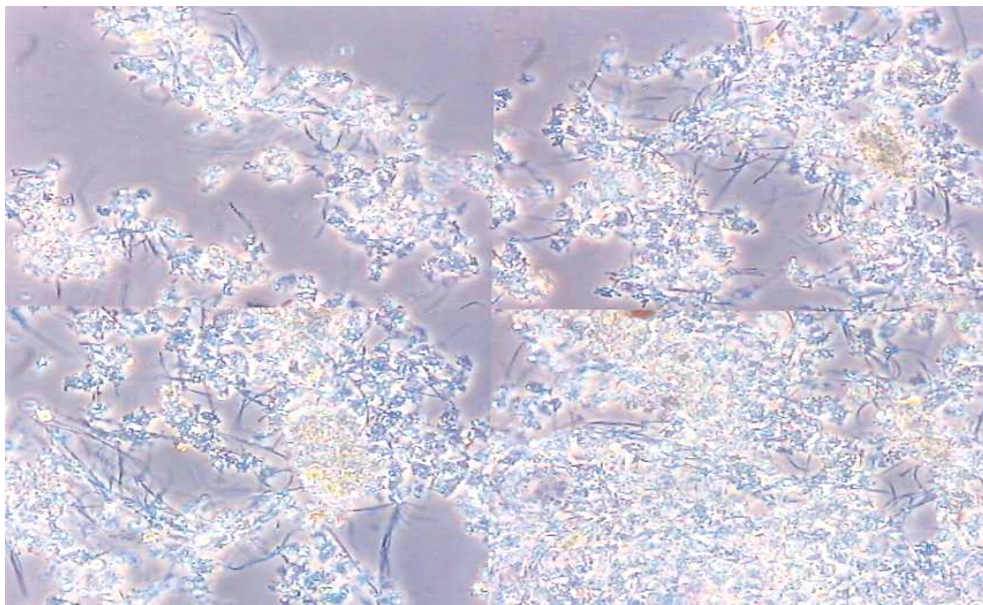
<그림 3-2-39> 반송비 변화

#### (8) RABC SYSTEM에서의 미생물 관찰

RABC SYSTEM내에서 관찰된 바실러스균의 모습을 <그림 3-2-40>에서 <그림 3-2-45>에 나타내었다.

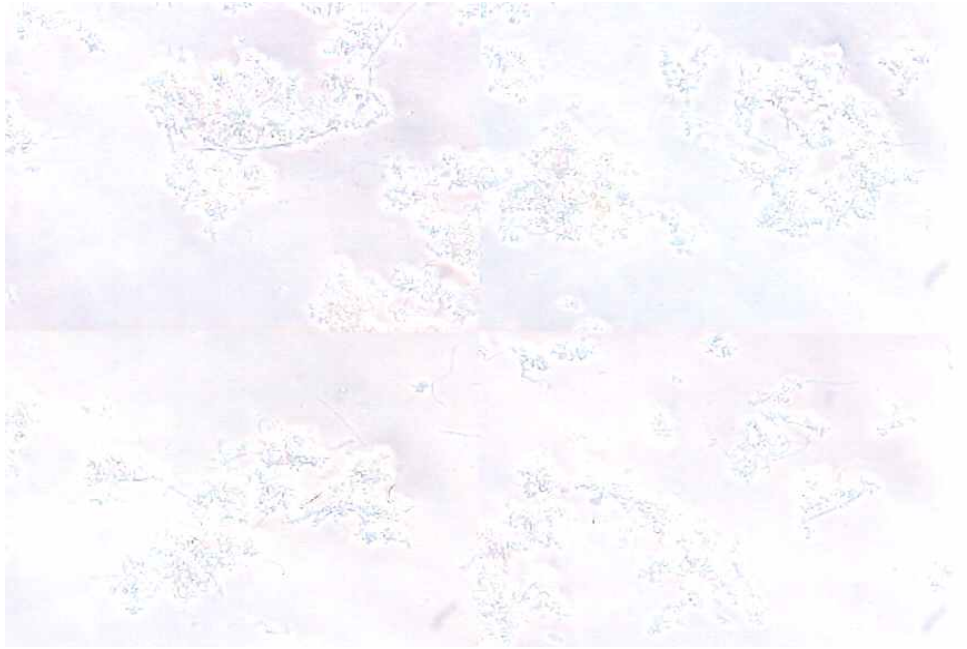


<그림 3-2-40> 생물반응조 1조 바실러스균

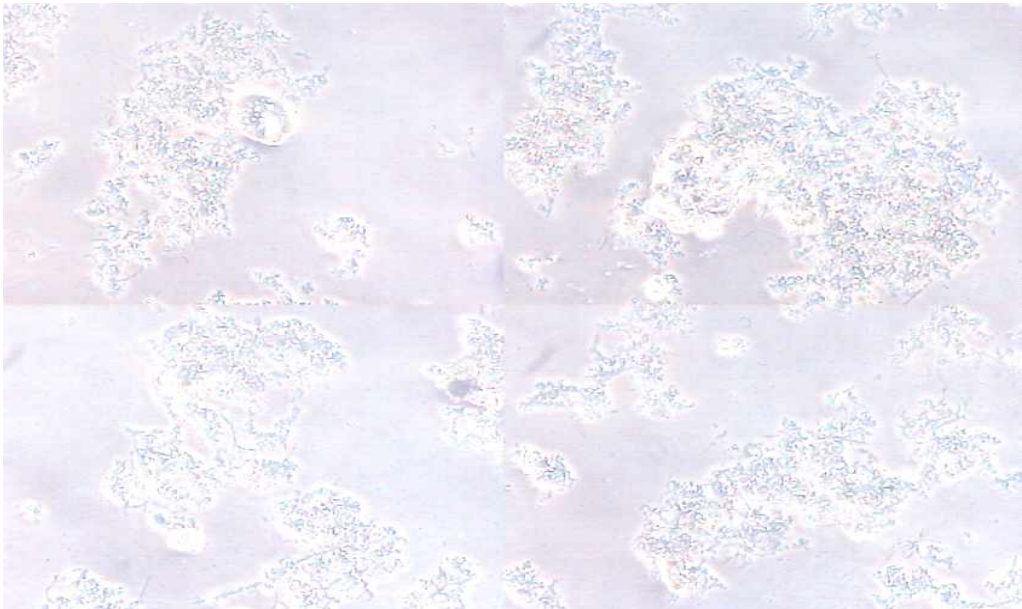


<그림 3-2-41> 생물반응조 2조 바실러스균

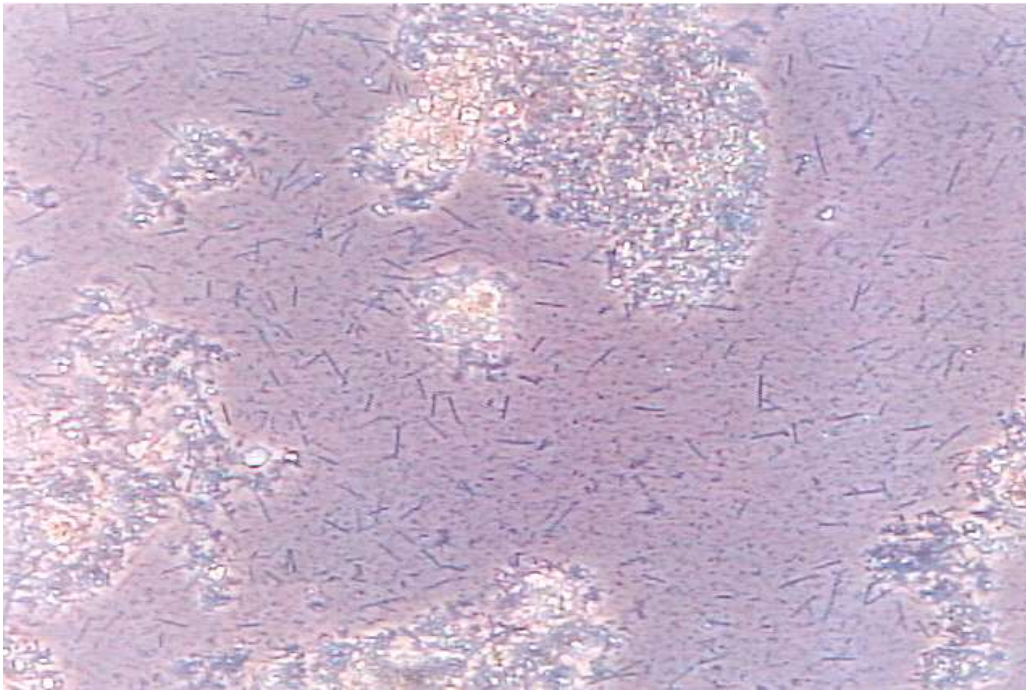




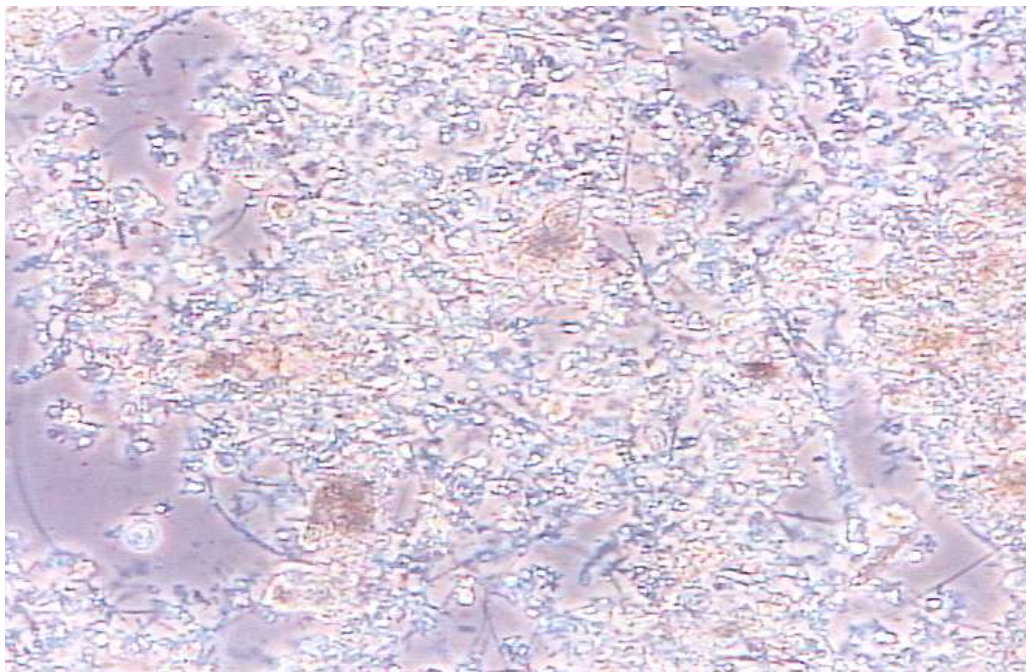
<그림 3-2-42> 생물반응조 3조 바실러스균



<그림 3-2-43> 생물반응조 4조 바실러스균



<그림 3-2-44> RABC 장치에 부착 바실러스균



<그림 3-2-45> 반송슬러지 바실러스균

#### 4. RABC 공정의 대장균군 제거 효과

바실러스균을 이용한 RABC 공정의 경우, 공정 내에서 우점화되어 있는 바실러스균의 항균성으로 인하여 병원성 미생물의 사멸효과가 있을 것으로 예상되어 왔다. 바실러스균의 항균성 작용으로 인하여 미생물의 멸균효과가 있는 경우에는 설치와 유지에 많은 비용이 소요되는 소독공정을 생략할 수 있으므로 바실러스균을 이용한 RABC공정이 도입되는 하수처리장에서는 비용 면에서 큰 절감효과를 가질 수 있을 것으로 사료되기 때문에 본 실험에서는 통복 RABC 실증 플랜트에서의 미생물 수질분석을 통하여 바실러스균을 이용한 RABC 공정에서의 미생물제거효과에 대하여 조사하였다.

RABC 실증 플랜트의 소독효과에 대한 연구를 하기위해 수온, SS, MLSS, SVI, 총대장균군, 대장균, 중온일반세균에 대해 실험을 수행하였다. <표 3-2-19>에 각각의 분석 항목과 실험 방법을 나타내었다.

<표 3-2-19> 실험항목 및 분석방법

분석 항목	분석 방법	비 고
수온	-	pH meter
SS, MLSS	-	Standard method
SVI	-	수질오염공정시험법
총대장균군	평판집락법	Standard method
	MPN법	Standard method
대장균	MPN법	Standard method
중온일반세균	평판집락법	Standard method

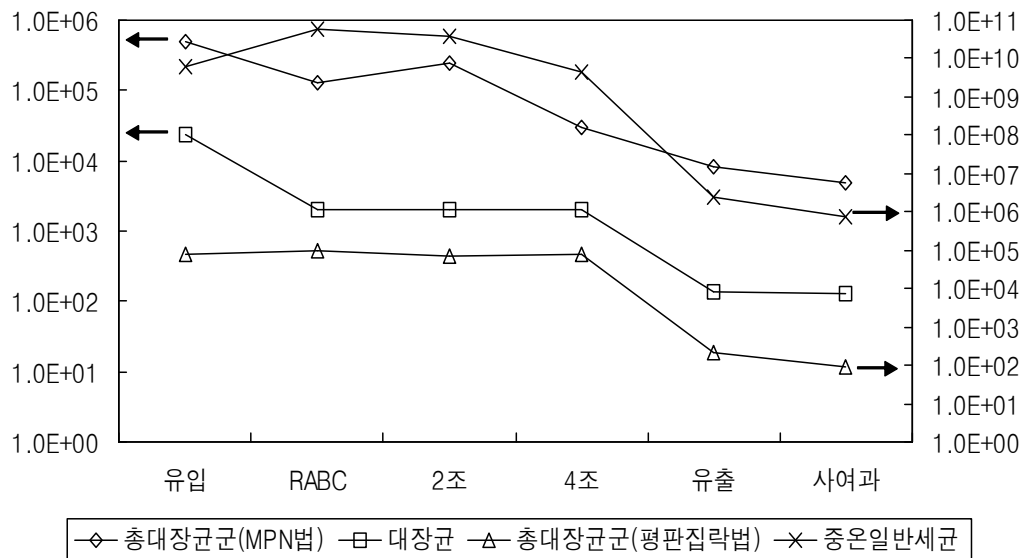
실증 플랜트로 유입되는 유입원수의 유량과 성상을 <표 3-2-20>에 나타내었다.

<표 3-2-20> 단계별 유입원수 변화

구 분	RUN1	RUN2	비 고
기간	02. 10. 5 ~ 03. 3. 3	03. 3. 4 ~ 4. 25	RUN1 : 하수 + 분뇨 혼합 (1차 침전 후) RUN2 : 하수 + 분뇨 + 탈 수슬러지여액 (직접 유입)
유입량 (m <sup>3</sup> /d)	300	300	

(1) RABC 공정에서의 실시간 대장균군 제거 효과 분석

RABC공정 내에서 바실러스균의 항균작용으로 인하여 세균 및 총대장균군 사멸 효과가 있는 지를 알아보기 위하여 2003년 4월 24일 RABC공정의 소독효과를 실시간으로 분석하였다.



<그림 3-2-46> RABC 공정의 실시간 미생물 분석

<그림 3-2-46>은 RABC 공정의 실시간 미생물 분석을 나타낸 것이다. 총대장균군 MPN법의 경우, 2조  $2.4 \times 10^5$  MPN/ml, 4조  $3.0 \times 10^4$  MPN/ml로 1 log 정도 제거되었으나 대장균의 경우에는 2조와 4조의 차이가 거의 없었다. 침전조를 거친 유출수에서는 총대장균군  $8.0 \times 10^3$  MPN/ml, 대장균  $1.3 \times 10^2$  MPN/ml로 총대장균군과 대장균 모두 1 log 정도 제거되는 경향을 보였다. 평판집락법을 이용한 총대장균군 분석의 경우에는 4조에서  $8.0 \times 10^4$  CFU/ml로써 유입수의  $8.1 \times 10^4$  CFU/ml와 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 침전조를 거친 유출수에서  $2.2 \times 10^2$  CFU/ml이 검출되었다.

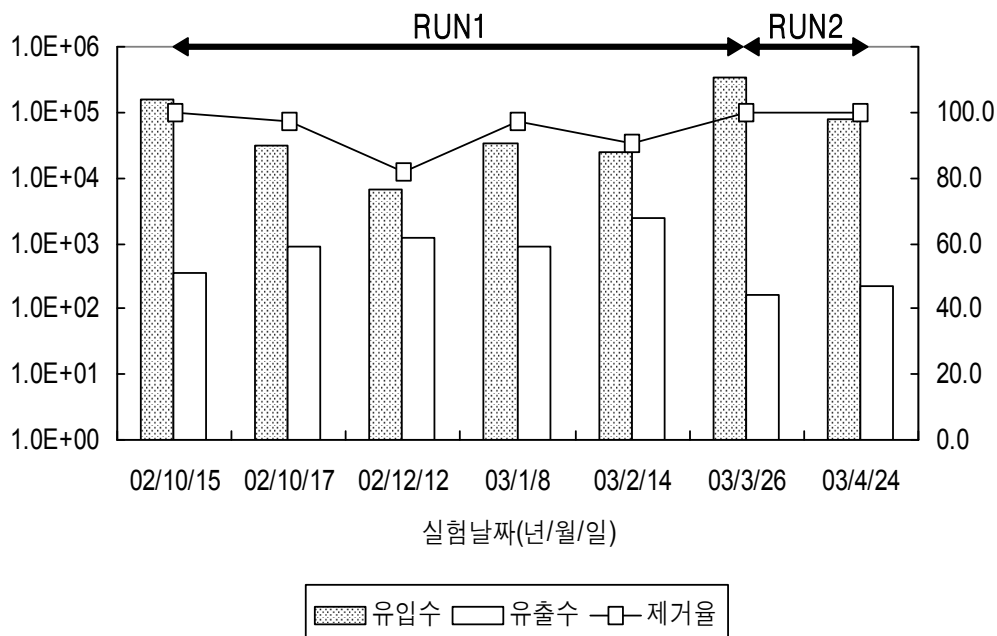
위의 실험 자료를 분석한 결과, 바실러스균을 이용한 RABC 공정에서의 세균 및 대장균군의 제거는 주로 침전지에서 침전을 통하여 발생하고 있음을 알 수 있었으며, RABC 공정 내에서 바실러스균의 항균작용으로 인한 세균 및 대장균 사멸효과는 크게 기대할 수 없는 것으로 판단된다.

## (2) RABC 공정의 실험일별 대장균군 제거 효과 분석

계절별 대장균 및 중온일반세균의 제거 특성을 알아보기 위하여 <그림 3-2-47> ~<그림 3-2-50>과 같이 실험일별 소독효과를 분석하였다.

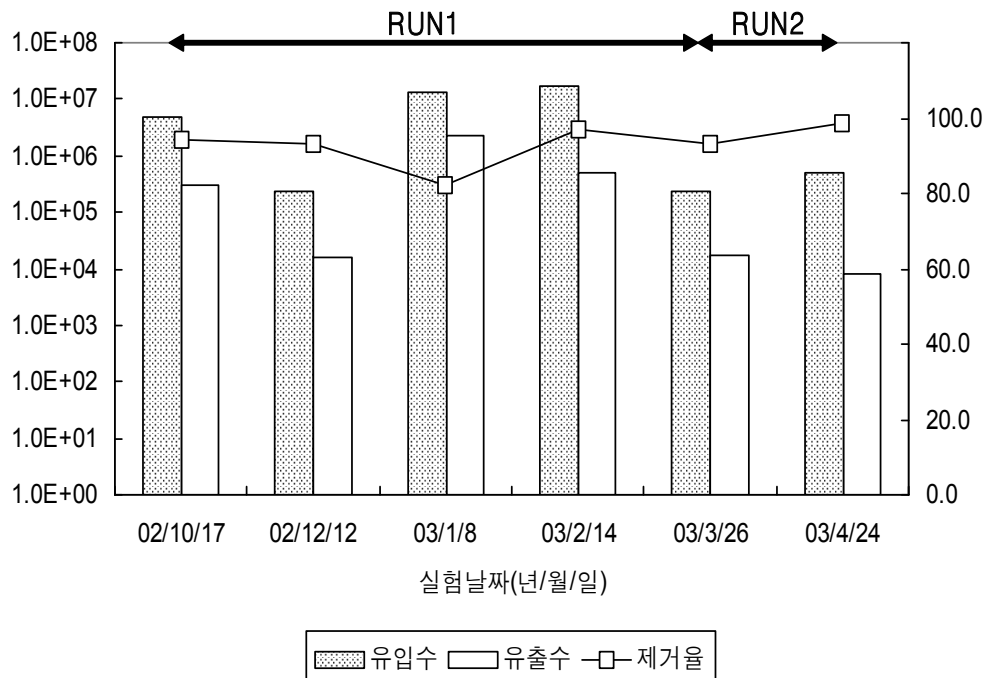
<그림 3-2-47>은 실험일별로 총대장균군의 제거에 대한 실험을 한 결과이다. 유입수와 유출수를 대상으로 평판집락법을 이용하여 분석하였다. 겨울철 수온저하

에 따라 제거율과 유출수의 총대장균군의 농도가 증가했고 제거율은 2002년 12월 12일 실험에서 82%까지 저하되는 현상을 보였다. 제거율은 낮았지만 유출수의 총대장균군 농도는  $3.0 \times 10^3$  CFU/ml이하를 만족했다. 이는 RABC 공정에서 우점종인 바실러스균이 중온성 세균이므로 그 특성상 겨울철 수온이 낮을 경우 일시적으로 활성도가 저하되어 침전성이 떨어지기 때문이라고 추정된다.



<그림 3-2-47> 실험일별 총대장균군(평판집락법) 제거 분석

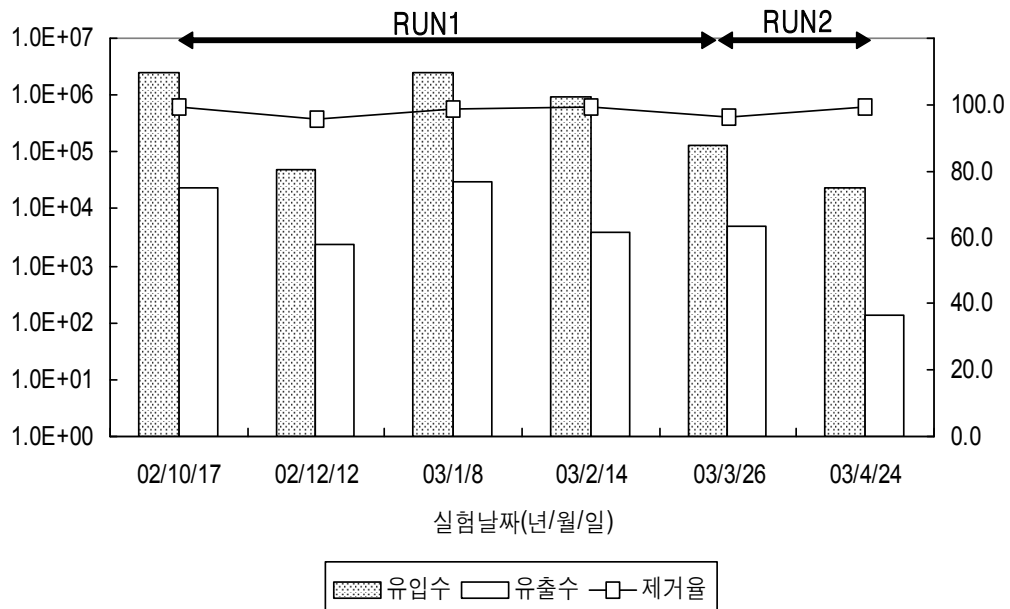
<그림 3-2-48>은 실험일별로 총대장균군의 제거에 대한 MPN 실험을 한 결과이다. 평판집락법을 이용한 실험의 결과와 마찬가지로 겨울철 유출수의 총대장균군의 농도가 높았으며 제거율도 낮게 나타났다. 평판집락법의 총대장균군의 농도와 비교하기 위해서 1ml당 MPN으로 환산해서 나타내었으며, 평판집락법보다 유입수와 유출수 모두 약 1 log 높은 값을 보였다.



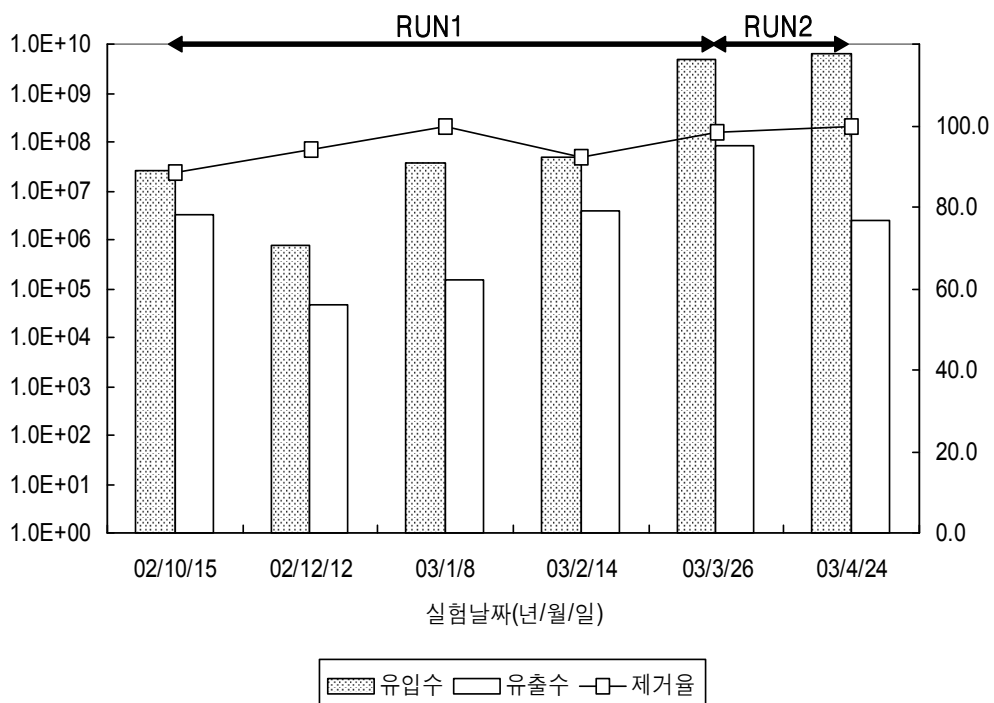
<그림 3-2-48> 실험일별 총대장균군(MPN법) 제거 분석

<그림 3-2-49>는 실험일별로 대장균의 제거에 대한 실험을 한 결과이다. 유입수와 유출수를 대상으로 MPN법을 이용하여 실험하였다. 대장균에 대한 제거율은 수온에 따른 변화가 거의 없는 것으로 나타났다.

<그림 3-2-50>은 실험일별로 중온일반세균의 제거에 대한 실험을 한 결과이다. 중온일반세균의 하수처리공정의 효율을 나타내는 지표중의 하나로 쓰이고 있다. 수온이 올라감에 따라 유입수의 중온일반세균의 농도가 현저히 증가하는 경향을 보였다. 유출수의 SS가 증가하면 중온일반세균의 제거율은 저하하는 결과를 보였다. 특히 2003년 2월 14일의 유출수 SS는 25mg/ℓ 로써 2003년 4월 24일의 5.5mg/ℓ 보다 높았으며 중온일반세균의 제거율은 2002년 2월 14일의 92.2%에서 2003년 4월 24일의 99.9%로 증가했다. 이로부터 미생물 제거에 있어서는 유출수의 SS의 제어가 필요한 요소 중 하나임을 알 수 있다.



<그림 3-2-49> 실험일별 대장균 제거 분석

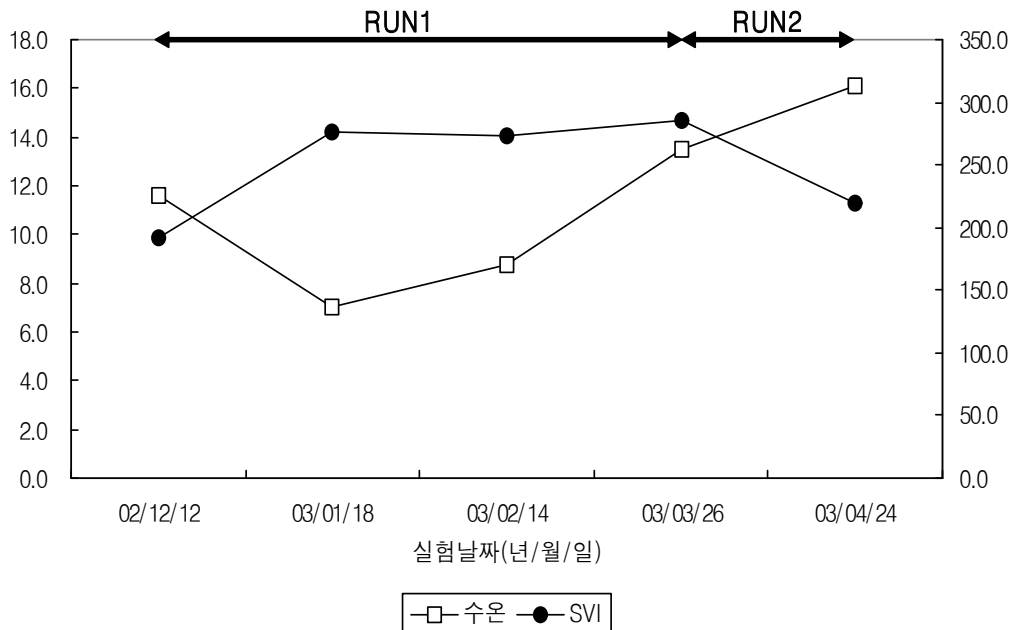


<그림 3-2-50> 실험일별 중온일반세균 제거 분석



### (3) 슬러지 침강성 분석

<그림 3-2-51>은 실험일별로 수온과 SVI를 측정한 결과이다. 수온이 저하함에 따라 SVI는 높은 값을 보여준다. 2003년 3월 26일 SVI는 수온의 상승에도 불구하고 286.0으로써 높은 값을 보이고 있다. 이는 원수의 성상이 하수원수+분뇨에서 하수원수+분뇨+슬러지탈수여액으로 변경되어 F/M이 높아짐에 따라 수중 미생물들의 활성도 증가로 인해 SVI가 높아진 것으로 판단된다. 2003년 4월 24일의 SVI는 220으로 3월 보다 낮은 값을 보였는데 이는 수중 미생물이 원수 성상에 적응했기 때문이라고 사료된다.



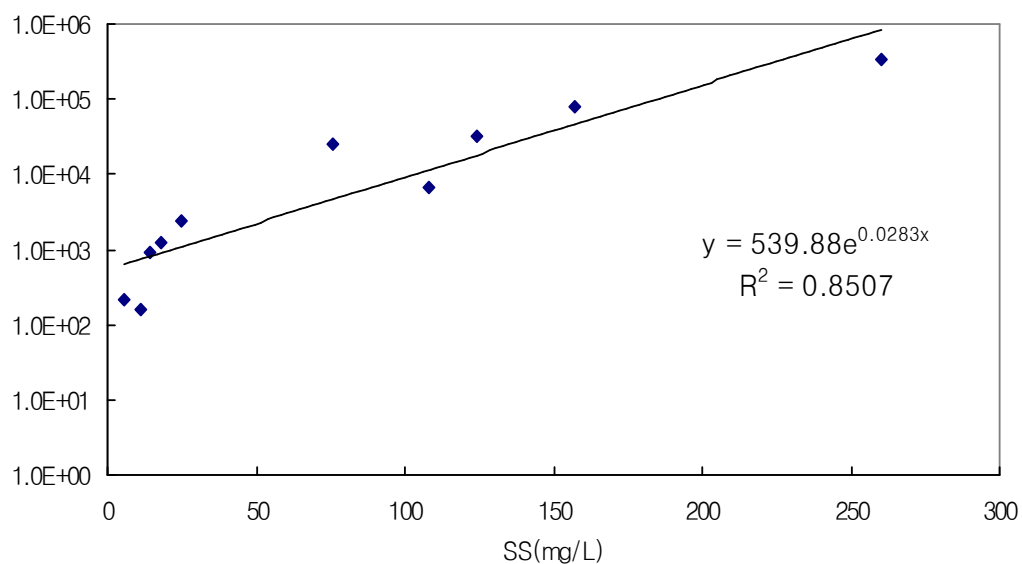
<그림 3-2-51> 실험일별 수온 및 SVI

### (4) SS와 미생물 제거 효과 분석

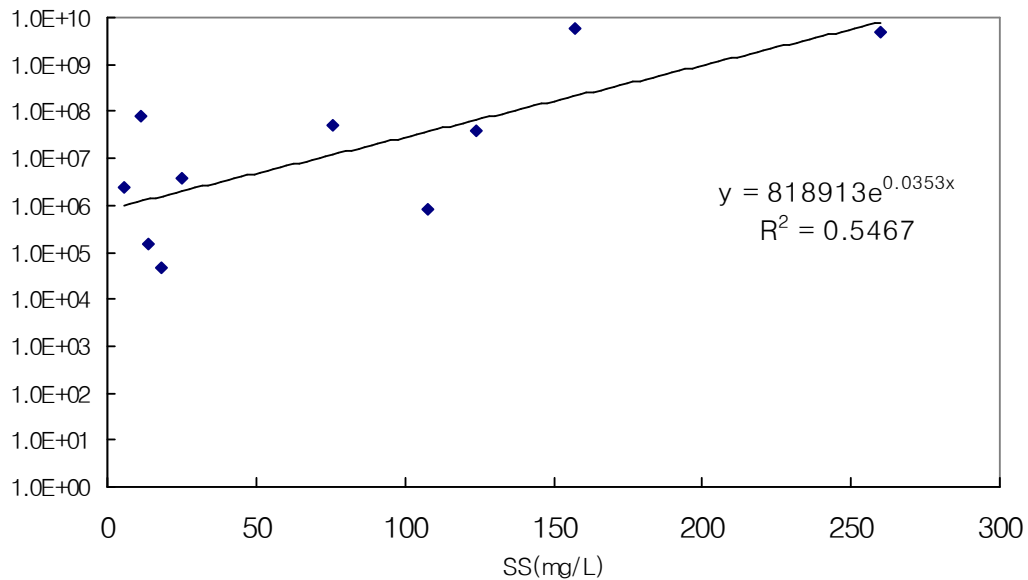
<그림 3-2-52>에서 보이는 바와 같이 침전에 의해 대부분의 미생물들이 제거됨을 알 수 있다. 그러나 슬러지 침강성과 미생물 제거율과의 뚜렷한 연관성을 찾을 수 없었다. 세균은 물 환경에서 포아상분포로 존재하고(Remington와 Schock, 1985), 입자에 부착하여 부유하거나 퇴적한다. 따라서 유입수, 유출수의 SS와 미생물의 농도의 연관성을 분1석해 보았다.

<그림 3-2-52>는 SS에 따른 총대장균군(평판집락법)의 농도를 분석한 그래프이다. 상관계수가 0.8507로 높은 상관성을 가지고 있음을 알 수 있다. <그림

3-2-53>은 SS에 따른 중온일반세균의 농도를 분석한 그래프이다. 상관계수가 0.5467로 총대장균군보다는 낮은 상관성을 보였다. 침강성뿐만 아니라 유출수의 SS의 제어를 통해서 미생물 제거율을 높일 수 있음을 알 수 있다. 따라서 유출수를 사여과(중력식, 유속 130m/day)를 하여 분석해 보았다. 유출수의 총대장균군 농도는 사여과를 한 후에  $2.2 \times 10^2$  CFU/ml에서  $8.9 \times 10^1$  CFU/ml로 낮아졌다. 중온일반세균의 농도도  $2.5 \times 10^6$  CFU/ml에서  $7.8 \times 10^5$  CFU/ml로 낮아졌다. 따라서 사여과를 통해 유출수내 SS를 저감시킴으로써 소독효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

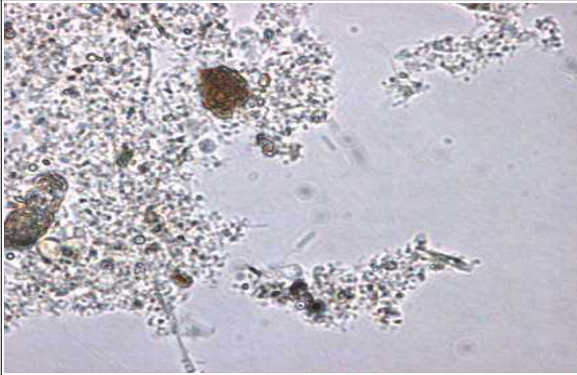





<그림 3-2-52> SS에 따른 총대장균군(평판집락법)농도



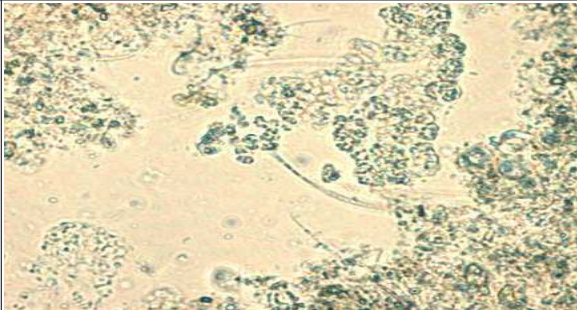
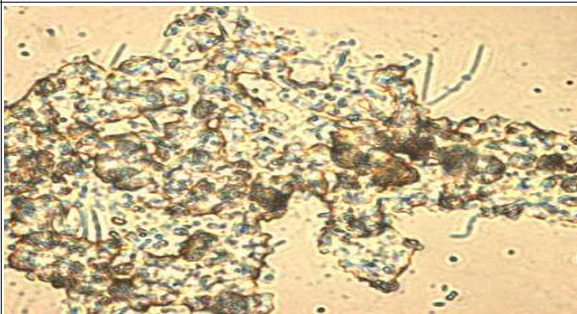


<그림 3-2-53> SS에 따른 중온일반세균 농도

실험 결과 최종방류수의 총대장균군은 방류수 수질기준인 3,000 CFU/ml 이하를 만족했다. 그러나 상수원의 수질에 영향을 미치는 특정지역의 기준인 1,000 CFU/ml 미만은 만족시키기 어려운 것으로 나타났다. 이로부터 RABC 공정은 특정지역을 제외한 곳에서는 소독공정 없이도 총대장균군에 대한 방류수 수질 기준을 만족할 수 있고, 특정지역일 경우에만 별도의 소독시설의 설치가 필요함을 알 수 있었다. 수온 저하에 따른 SVI가 높아짐에 따라 총대장균군(평판집락법)의 제거율이 82%까지 낮아지는 경향을 보였지만, 겨울철의 특성상 하수중의 미생물농도가 여름철보다 현저히 낮기 때문에 방류수내 병원성 세균에 의한 위생상 안전성을 우려할 필요는 없다고 사료된다. 하수처리장방류수의 미생물은 여름철에 지속적으로 급격히 증가한다. RABC 공정의 경우 수온이 상승하면 바실러스균의 활성도가 높아져서 수중 미생물을 흡착 및 침강시켜 여름철 미생물 제거 효과가 크기 때문에 별도의 소독시설이 필요하지 않는 것으로 판단된다. 또한 사여과 등을 통한 유출수내 SS는 보다 적은 비용으로 보다 효과적인 미생물 제거 효과를 보였으므로 이에 대한 향후 연구가 필요하다고 생각한다.

날 짜	시 료 명	사 진	미생물명	출현 시 상 황
2003년 1월 8일	R A B C		<i>Bacillus</i>	바실러스가 플록 형성한 모습을 보이고 있다.
2003년 1월 8일	R A B C		<i>Peranema</i>	BOD부하가 낮은 경우 출현하며, 처리수가 비교적 양호할 때가 많다.
2003년 1월 8일	R A B C		<i>Opercularia</i>	질소물질의 농도가 높은 폐수 또는 생활오수 처리장에 많이 출현한다.
2003년 2월 24일	R A B C		<i>Drepanomonas</i> 섬모충류	약간 부하가 높은 시기부터 회복기에 걸쳐 출현한다. 또 수온이 낮은 겨울철에서 이른 봄에 걸쳐 많이 출현한다.

<그림 3-2-54> 소독실험에서 관찰된 미생물 사진

날 짜	시 료 명	사 진	미생물명	출현 시 상황
2003년 2월 24일	R A B C		<i>Geotrichum candidum</i> 진균류	SRT가 길거나 용존산소 농도가 높은 처리장에서 때때로 볼 수 있다.
2003년 2월 24일	R A B C		<i>Difflugia</i>	질화가 일어날 경우 관찰 된다.
2003년 2월 24일	R A B C		<i>Zoogloea</i>	BOD - SS부하가 상승한 경우 관찰된다.
2003년 2월 24일	R A B C		<i>Zoogloea</i>	BOD - SS부하가 상승한 경우 관찰된다.

<그림 3-2-55> 소독실험에서 관찰된 미생물 사진

## 5. RABC 공정에서의 동역학 상수의 결정

가. 동역학 상수의 결정을 위한 이론적 배경

회분식 또는 연속 운전식의 경우 기질의 일부는 새로운 미생물로 변환되고 또한, 무기물 및 유기물의 최종 생성물로 변환된다. 주어진 기질에서 생성되는 새로운 미생물의 양은 재현성이 있는 것으로 관찰되므로 기질 소비율과 성장률과의 사이에 다음과 같은 관계가 유도된다.

$$r_g = -Yr_{su}$$

여기서,

$r_g$ : 미생물 성장률, 질량/단위부피 · 시간

$Y$ : 최대미생물 생산계수, mg/mg

$r_{su}$ : 기질 소비율, 질량/단위부피 · 시간

생물학적 동역학 모델에서 일반적으로 쓰이는 매개변수  $Y$ ,  $k$ ,  $K_s$ ,  $k_d$ 의 값을 실험적으로 얻음으로써 설계인자에 반영할 수 있다. 이러한 계수의 결정에 있어서 일반적인 방법은 기질 유출농도를 일정범위에서 달라지게 조절하여 실험한다. 즉,  $\theta_c$ 의 범위로 달리하여 실험장치를 조작하고, 정상상태에 도달된 자료로부터  $Q$ ,  $S_0$ ,  $S$ ,  $X$ 등의 평균값을 구한다.

$$r_{su} = -\frac{kXS}{K_s + S} = -\frac{S_0 - S}{\theta}$$

여기서,

$r_{su}$ : 기질 소비율, 질량/단위부피 · 시간

$k$ : 단위 무게의 미생물 당 최대 기질 소비율,  $k = \mu_m/Y$

$X$ : 미생물 농도, 질량/단위부피

$S$ : 성장제한 기질의 농도, 질량/단위부피

$K_s$ : 반속도 상수, 최대성장률이 1/2일 때의 기질의 농도, 질량/단위부피

$\theta$ : 수리학적 체류시간,  $V/Q$

X로 양변을 나누면,

$$\frac{kS}{K_s + S} = \frac{S_0 - S}{\theta}$$

위 식을 선형 형태로 만들면 다음과 같다.

$$\frac{\theta X}{S_0 - S} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k}$$

따라서  $K_s$ 와  $k$ 값은 y축에  $\theta X/S_0 - S$ 항을 x축에  $1/S$ 항을 대입하여 직선을 그려서 구할 수 있다. Y와  $k_d$ 값은 다음의 식을 이용하여 구할 수 있다.

$$\frac{1}{\theta_c} = -Y \frac{r_{su}}{X} - k_d$$

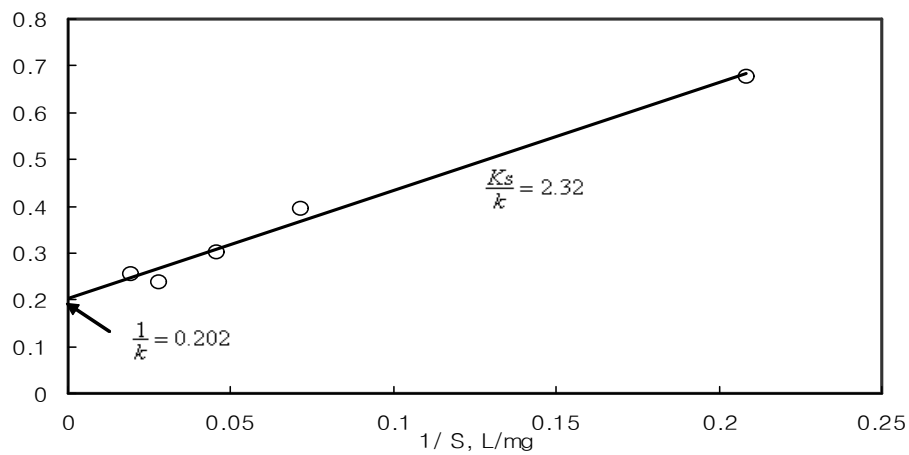
위 식과 같이 정리하여 y축에  $1/\theta_c$ 항을 x축에  $-r_{su}/X$ 항을 대입하여 직선을 그려서 구할 수 있다.

#### 나. 회분실험을 통한 동역학 상수의 결정

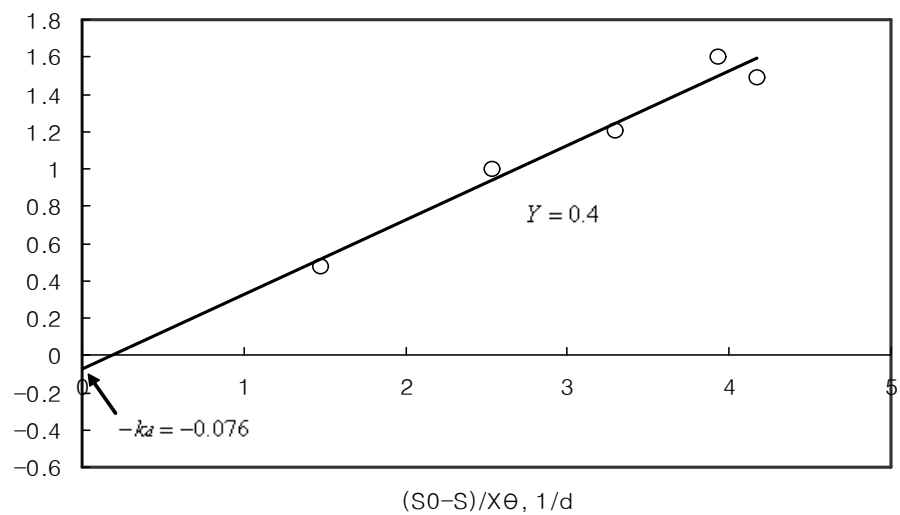
RABC공정으로부터의 미생물을 이용한 회분실험을 통하여 동역학적 상수를 결정하여 RABC 공정의 생물반응조 설계 및 운전인자에 반영하고자 하였다. <표 3-2-21>에 나타나 있는 회분 실험결과를 토대로 동역학적 상수를 <그림 3-2-56>, <그림 3-2-57>과 같이 구하였다.

<표 3-2-21> 동력학적 인자 산정을 위한 회분실험 결과

구분	$S_0$ (mg/ℓ BOD <sub>5</sub> )	S (mg/ℓ BOD <sub>5</sub> )	$\theta = \theta_c$ (day)	X, (mgVSS/L)
1회	240	4.8	2.1	76
2회	232	14	1	86
3회	246	22	0.83	82
4회	242.8	36	0.67	74
5회	220.6	52	0.625	76



<그림 3-2-56> 동력학적 계수  $K_s$ ,  $k$ 의 결정



<그림 3-2-57> 동역학적 계수  $k_d$ , Y의 결정



<표 3-2-21> 및 <그림 3-2-56>, <그림 3-2-57>로부터 산정된 동력학적 계수를 정리하면 <표 3-2-22>과 같다.

<표 3-2-22> Batch 실험을 통하여 산출된 동역학적 계수

구분	k ( d <sup>-1</sup> )	K <sub>s</sub> (mg/ℓ )	k <sub>d</sub> ( d <sup>-1</sup> )	Y (MLVSSmg/mgBOD)	μ <sub>m</sub> ( d <sup>-1</sup> )
실험값	4.95	11.48	0.076	0.4	1.9

<표 3-2-22>의 실험결과로부터 유출수의 기질농도를 추정하면 다음 식으로 일반화할 수 있다.

$$S = \frac{K_s(1+\theta)}{\theta(Yk - k_d) - 1}$$

주의할 점은 상기의 식으로부터 유출수의 농도를 추정하는 것도 가능한 일이지만, 위의 실험결과는 유입수내의 부유 고형물의 영향을 고려하지 않았기 때문에 실제 처리공정으로부터의 배출되는 기질 및 부유물질의 농도는 침전지의 성능에 따른다고 보는 것이 타당할 것이다.

<표 3-2-23>은 일반 도시하수처리를 위한 활성슬러지 공정의 전형적 동력학계수 값을 나타낸다.

<표 3-2-23> 도시하수처리를 위한 활성슬러지 공정의 전형적 동력학계수 값

구분	k ( d <sup>-1</sup> )	K <sub>s</sub> (mg/ℓ )	k <sub>d</sub> ( d <sup>-1</sup> )	Y (MLVSSmg/mgBOD)	μ <sub>m</sub> ( d <sup>-1</sup> )
범위	2-10	25-100	0.025-0.075	0.4-0.8	1.9
대표값	5.0	60	0.05	0.6	-

<표 3-2-22>의 RABC공정에서의 미생물실험과 <표 3-2-23>의 활성슬러지 공정을 비교할 때 가장 큰 특징으로서, 최대 미생물 생산계수(Y)가 일반 활성슬러지 공정 보다 RABC공정에서 상당히 낮은 값을 가짐을 알 수 있다. 실제로 RABC공정의 파

일렛 플랜트로부터의 실험 결과 슬러지 발생률은 제거 BOD값에 대하여 20%내외의 값으로 연구되었다.

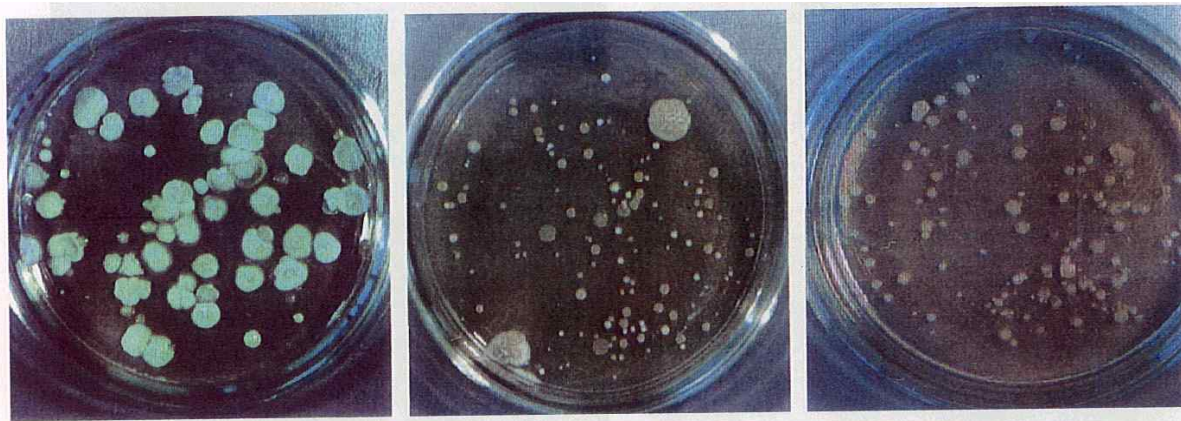
## 6. 생물막 미생물의 종류 및 특성

### 가. 생물막 미생물의 수와 종류

#### (1) 생물막 미생물의 수

##### (가) 종속영양세균수

파일럿 플랜트 및 실증 플랜트 RABC 공정의 생물막에서 검출된 종속영양세균 수는 이미 <표 3-2-1>에서와 언급했던 바와 같이 각각  $3.6 \times 10^7$  및  $1.9 \times 10^8$  CFU/ml이었으며 후속되는 제1 생물반응조(제1 포기조)의 종속영양세균수는 생물막의 1/10 수준이었다. 한편 전형적인 RBC 공정의 생물막 종속영양세균수는  $2.2 \times 10^7$  CFU/ml, 전형적인 활성슬러지공정의 포기조 종속영양세균수는  $1.1 \times 10^6$  CFU/ml로서 RABC 장치의 생물막이나 포기조에 비하여 적게 나타났다. 이는 본 RABC 공정에는 기존의 RBC 공정이나 활성슬러지공정에 비하여 훨씬 많은 세균이 서식하고 있으며 따라서 하수처리에 참가하는 미생물의 수가 절대적으로 많다는 것을 나타내고 있는 것이다. TSA 배지에서 생물막 시료를 도말 배양하여 형성된 다양한 모양의 종속영양세균 콜로니를 <그림 3-2-58>에 나타내었다.

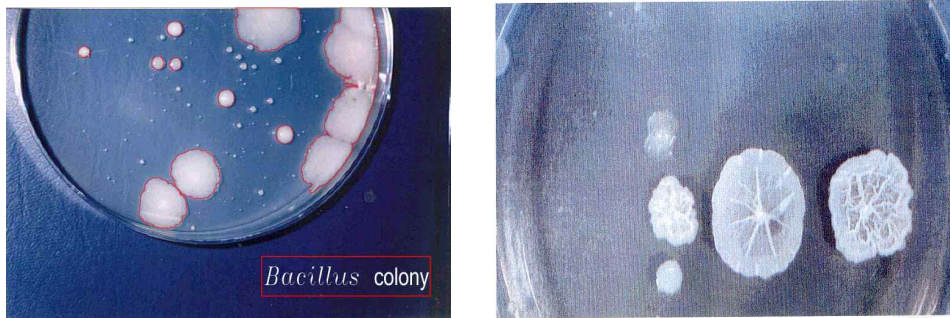


<바실러스균이 대부분인 종속영양세균 콜로니> <몇몇 바실러스균이 포함된 종속영양세균 콜로니> <바실러스균이 전혀 없는 종속영양세균 콜로니>

<그림 3-2-58> TSA 배지에서 자란 종속영양세균의 다양한 콜로니

#### (나) 바실러스균수

콜로니모양으로 계수한 본 연구에서 설치한 파일럿 플랜트 및 실증 플랜트 RABC 공정에서 검출된 바실러스균수는 생물막에서 각각  $5.1 \times 10^6$ ,  $1.4 \times 10^7$  CFU/ml, 제1 포기조에서 각각  $4.3 \times 10^5$ ,  $1.1 \times 10^6$  CFU/ml이었다(표 3-2-1). TSA 및 바실러스 배지에서 형성된 바실러스균의 콜로니 모양은 <그림 3-2-58>과 <그림 3-2-59>에 각각 수록하였다.

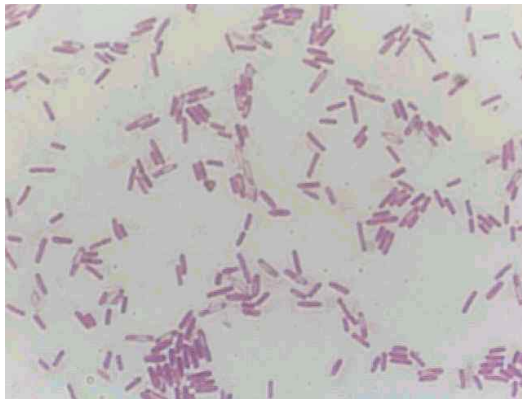


<그림 3-2-59> 바실러스 배지에서 자란 바실러스균의 다양한 콜로니

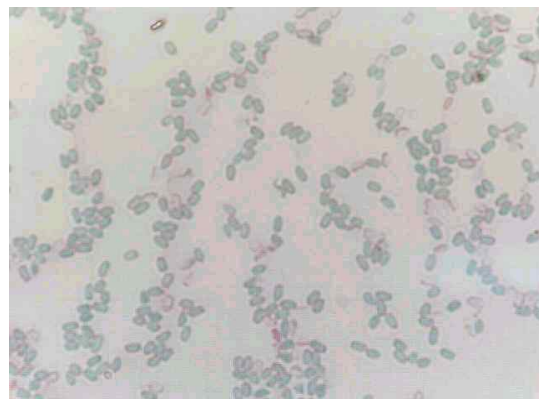
그러나 바실러스균의 콜로니 모양을 한 세균을 순수배양하여 내생포자의 존재를 확인한 결과 상당수가 내생포자를 형성하지 못하는 것으로 확인됨으로써 바실러스균의 확인은 콜로니 모양과 더불어 반드시 내생포자 형성을 확인해야 하는 것으로 나타났다. 바실러스균을 Gram 염색하여 확인된 Gram 양성의 간균 세포, malachite green으로 염색한 내생포자, 염색을 하지 않은 바실러스 간균 세포와 내생포자를 1600× 배율로 광학현미경으로 관찰한 것을 <그림 3-2-60>에 나타내었다.

내생포자의 존재로서 확인한 파일럿 플랜트 및 실증 플랜트 RABC 공정의 바실러스균수는 <표 3-2-1>에 나타난 바와 같이 생물막에서  $2.4 \times 10^6$ ,  $1.2 \times 10^7$  CFU/ml로서 콜로니 모양 기준의 바실러스균수의 47%, 86%로서 차이가 심하였다. 제1 포기조에서는 각 플랜트의 생물막 바실러스균수의 51%와 91%인  $2.2 \times 10^5$ ,  $1.0 \times 10^6$  CFU/ml으로 겨울과 봄에 걸쳐 가동된 파일럿 플랜트에 비하여 봄과 여름에 걸쳐 가동된 실증 플랜트의 바실러스균수가 더 많이 검출되었다. 이는 실증 플랜트의 생물막이 보다 극상에 가까운 미생물이 부착되어 안정화된 결과로 보인다. 그리고 종속영양세균수에 대한 내생포자 기준 바실러스균수 비율은 생물막에서 파일럿 플랜트의 경우 6.7%, 실증 플랜트가 6.3%였다. 한편 기존 RBC 공정의 생물막이나 활성

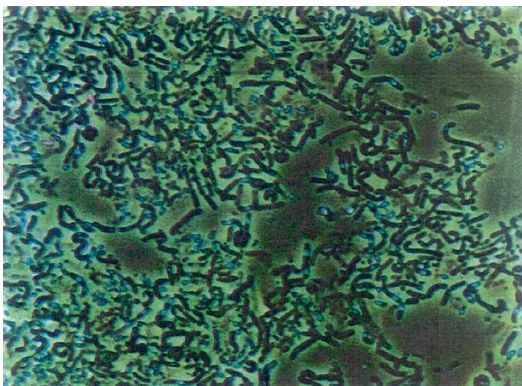
슬러지공정의 포기조에서의 바실러스균수(내생포자 기준)와 비교한 결과 실증 플랜트 RABC 공정의 생물막내 바실러스균수의 0.8%와 0.1%에 불과한  $1.0 \times 10^5$ ,  $1.5 \times 10^4$  CFU/ml이었고 종속영양세균수에 대한 비율도 각각 0.4%, 0.8%로서 RABC 공정의 생물막이나 포기조에 비하여 바실러스균수가 극히 적은 것으로 나타났다.



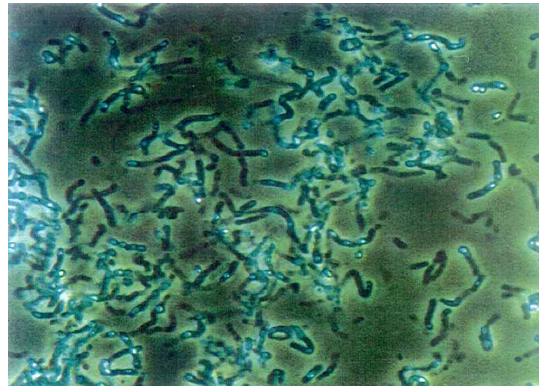
<Gram 양성 간균세포>



<녹색으로 염색된 내생포자>



<염색하지 않은 간균세포>



<염색하지 않은 내생포자>

<그림 3-2-60> 바실러스 간균 세포와 내생포자의 현미경 사진

## (2) 생물막 미생물의 종류

### (가) 종속영양세균

TSA 배지에서 형성된 콜로니 가운데 바실러스균 콜로니가 아닌 것으로 판단되는 종속영양세균만을 대상으로 형태별로 무작위로 64개 균주를 선별하여 순수배양하였다. 이들의 Gram 특성, 세포 모양, oxidase 및 catalase 특성, 내생포자 형성 여부를 관찰하고 이 가운데 52개 균주를 대상으로 MIDI 시스템을 이용하여 동정한 결과를 <부록>에 수록하였다.

MIDI 시스템의 신뢰도를 확인하고 동시에 MIDI 데이터베이스와의 유사도가 전



혀 없는 것으로 나타난 종속영양세균의 확인을 위하여 모두 6개의 종속영양세균에 대하여 유전자 분석에 의한 동정을 실시하여 그 결과를 <표 3-2-24>에 나타내었다. 이 표에서 보는 바와 같이 MIDI 시스템에서 0.8 이상의 유사도를 보여준 균주는 적어도 속(genus) 수준 이상에서는 유전자 분석 결과와 일치하는 것으로 나타났으며, MIDI 시스템으로 동정되지 아니한 균주도 성공적으로 종을 확인할 수 있었다.

<표 3-2-24> 유전자(16S rDNA) 분석에 의한 생물막내 종속영양세균의 동정 결과

균주 번호	프라이머 (Primer)	동정에 사용된 염기수(bp)	유전자 서열이 가장 비슷한 데이터베이스상의 세균 종	일치염기수/ 비교염기수	가장 유사한 종과의 유사도	MIDI 시스템에 의한 동정 (<부록 3-2-1> 참조)		
						균주번호	동정결과	유사도
N3	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	614/620	99%	HB2	동정하지 않았음	-
Ni24	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Aeromonas hydrophila</i>	561/584	96%	HB8	<i>Aeromonas caviae</i>	0.766
Ni38	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Acinetobacter junii</i>	567/582	97%	HB19	동정불가	0
N39	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Aeromonas hydrophila</i>	568/580	97%	HB27	<i>Aeromonas caviae</i>	0.823
Ni46	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Aeromonas hydrophila</i>	560/567	98%	HB30	<i>Aeromonas salmonicida</i>	0.851
Ni47	<i>Bacteria</i> (27F,1492R)	640	<i>Pseudomonas putida</i>	538/546	98%	HB20	동정불가	0

MIDI로 동정한 52개와 유전자 분석으로 추가로 동정된 1개를 포함하여 모두 53개의 종속영양세균 가운데 MIDI system 유사도가 0.5 이상의 신빙성이 있는 37개 균주 및 유전자로 동정된 3개(이 가운데 2개는 MIDI 동정과 중복) 균주 등 모두 RABC 생물막에서 동정된 38개 균주를 중심으로 정리한 것이 <표 3-2-25>이다. 이 표에서 보는 바와 같이 다양한 유기물을 분해할 수 있으며 홍색세균 및 유연종 집단으로서 거의 모든 환경조건에서 검출되는 Proteobacteria가 21개(40%)로서 가장 많이 검출되었는데, 이 가운데서도 19개(36%)가 Gammaproteobacteria로서 대부분을 차지하였다. 다음으로 높은 G+C 함량의 Gram-양성 세균집단인 Actinobacteria가 18개(34%)로서 이 두 문(phylum)이 생물막 종속영양세균의 74%를 점유하고 있었다. 그리고 낮은 G+C 함량의 Gram-양성 세균집단인 Firmicutes가 1개만이 검출되었다. 이밖에 MIDI와의 유사성이 0.5 미만으로 동정 결과가 불확실한 종류가 11개, 유사성이 전혀 없는 균주가 2개였다.

<표 3-2-25> RABC 공정의 생물막에서 검출된 배양가능한 호기성 종속영양세균의 종류

문(Phylum)	강(Class)	아강(Subclass)	목(Order)	아목(Suborder)	과(Family)	속(Genus)	종(Species)	개체수(개)	비율(%)
Proteo-bacteria	Gamma-proteobacteria		Aero-monadales		Aeromona-daceae	<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i> <i>A. caviae</i> <i>A. salmonicida</i>	11	20.7
			Xantho-monadales		Xanthomona-daceae	<i>Steno-trophomonas</i>	<i>S. maltophila</i>	4	7.5
			Pseudo-monadales		Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>A. Iwoffii</i> <i>A. junii</i>	2	3.8
					Pseudomona-daceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. putida</i>	1	1.9
			Entero-bacteriales		Entero-bacteriaceae	<i>Klebsiella</i>	<i>K. ornithinolytica</i>	1	1.9
			소계					19	35.8
	Beta-proteobacteria		Burkhol-deriales		Comamona-daceae	<i>Acidovorax</i>	<i>A. facilis</i>	2	3.8
	소계							21	39.6
Actino-bacteria	Actino-bacteria	Actino-bacteridae	Actino-mycetales	Coryne-bacterineae	Coryne-bacteriaceae	<i>Corynebacteium</i>	<i>C. striatum</i> <i>C. glutamicum</i> <i>C. callunae</i>	5	9.4
					Nocar-diaceae	<i>Rhodococcus</i>	<i>R. erythropolis</i> <i>R. globerulus</i>	3	5.7
					Tsuka-murellaceae	<i>Tsukamurella</i>	<i>T. paurometabolum</i>	1	1.9
					Gordonia-ceae	<i>Gordonia</i>	<i>G. terrae</i>	1	1.9
					소계			10	18.9
				Micro-coccineae	Micro-coccaceae	<i>Arthrobacter</i>	<i>A. agilis</i> <i>A. aurescens</i>	4	7.5
						<i>Kocuria</i>	<i>K. kristinae</i>	1	1.9
					Micro-bacteriaceae	<i>Microbacterium</i>	<i>M. esteraromaticum</i> <i>M. saperdae</i>	3	5.7
						소계		8	15.1
	소계							18	34.0
Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Paenibacilla-ceae	<i>Paenibacillus</i>	<i>P. apiarius</i>	1	1.9
MIDI 유사도 0.5미만								11	20.7
MIDI 유사도 0								2	3.8
계								53	100.0

검출된 속에 해당되는 종속영양세균집단의 중요 특징을 <표 3-2-26>에 나타내었다. RABC 생물막에서 배양된 종속영양세균들은 다양한 종류의 유기물 분해 능력이 있으며 일부 종은 탈질 능력과 복합인산염 축적 능력을 지니고 있어 고도처리능력 역시 갖고 있는 것으로 나타났다(Holt 등, 1994; Krieg 와 Holt, 1984; Sneath 등, 1986; Starr 등, 1981, Willams 등, 1989).

<표 3-2-26> RABC 생물막에서 배양된 종속영양세균 속(genus)의 특징

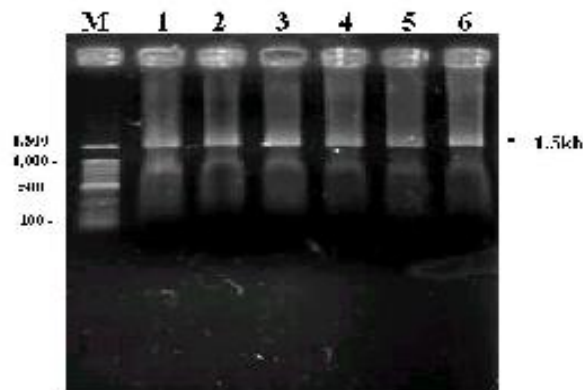
속(Genus)	주요 특징					
	산소이용여부	내생포자	Gram 특성 및 형태	탄소원	물질분해능력	고도처리능력
<i>Aeromonas</i>	통성혐기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	탄수화물, 젤라틴	질산염 환원 저온성도 있음
<i>Corynebacterium</i>	통성혐기성	×	양성 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물	복합인산염입자 축적, 질산염 환원 다양한 색깔의 입자
<i>Arthrobacter</i>	절대호기성	×	양성 간균 때론 구균	화학유기종속영양성	간단한 유기물	
<i>Stenotrophomonas</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물	탈질
<i>Rhodococcus</i>	호기성방선균	×	양성 다양한 형태	화학유기종속영양성	다양한 유기물	사상균으로 견고한 생물막 유지
<i>Microbacterium</i>	호기성이지만 혐기성에서도 미약한 성장	×	양성 간균	화학유기종속영양성	탄수화물	
<i>Acinetobacter</i>	호기성	×	음성이지만 때론 환경 곤란, 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물을 이용하므로 거의 모든 생태계에서 검출	복합인산염입자 축적
<i>Acidovorax</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성 H <sub>2</sub> 이용 독립영양	유기산, 아미노산, 펩톤, 요소	종속영양성 탈질 PHB 축적
<i>Pseudomonas</i>	호기성이지만 혐기성에서도 미약한 성장	×	음성 간균 때론 혐기성 호흡	화학유기종속영양성 일부는 통성 화학무기영양성	다양한 유기물을 이용하므로 거의 모든 생태계에서 검출	PHB 축적 plasmid 탈질
<i>Klebsiella</i>	통성혐기성 분원성	×	음성 간균 캡슐형성	화학유기종속영양성	다양한 탄수화물 젤라틴, 요소 고영양성	질산염 환원
<i>Tsukamurella</i>	절대호기성	×	양성 다양한 형태	화학유기종속영양성	다양한 유기물	사상균으로 견고한 생물막 유지
<i>Gordonia</i>	호기성방선균	×	양성 혹은 통성, 다양한 형태	화학유기종속영양성	다양한 유기물	사상균으로 견고한 생물막 유지
<i>Kocuria</i>	절대호기성	×	양성 구균	화학유기종속영양성	간단한 탄수화물	
<i>Paenibacillus</i>	통성혐기성바실러스균	O	양성 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물	내염성

#### (나) 바실러스균

바실러스 배지에서 자란 바실러스의 전형적인 콜로니만을 형태별로 무작위로 선별한 후 순수배양한 후 내생포자를 형성하는 바실러스균주 44개에 대하여 세포의 DNA를 추출하여 PCR기법으로 증폭하는 콜로니 PCR을 거쳐 그 염기서열을 분석하여 종을 확인하였다.

콜로니 PCR로 증폭된 바실러스균들의 16S rDNA를 agarose gel에서 확인한 것 가운데 일부를 <그림 3-2-61>에 나타내었다. 이 그림에서 보는 바와 같이 모든 바실러스균의 DNA band 가 모두 1.5 kb의 크기로 증폭되었으므로 우리가 원하는 부위의 DNA가 성공적으로 증폭되었음을 알 수 있다. 이렇게 성공적으로 증폭된 DNA의 염기서열 분석 결과는 텍스트 파일과 그림으로 얻어지며 이 자료를 NCBI의 BLASTn 프로그램을 이용하여 데이터베이스에 저장된 미생물의 염기서열과 비교 분석하여 염기서열의 유사도별로 결과가 나오게 된다. 참고로 분석된 바실러스

균 염기서열 가운데 균주 Ni1의 16S rDNA의 염기서열의 텍스트 파일(부록 참조), 염기서열 그림 파일(부록 참조), NCBI의 BLASTn 프로그램으로 확인한 염기서열 비교 결과 즉 동정된 파일을(부록 참조)에 부록에 수록하였다.



<그림 3-2-61> 바실러스균에서 추출한 16S rDNA의 PCR 증폭 산물(Lane M은 DNA 조각(band)의 크기를 나타내는 size mark, lane 1은 균주 Ni1, lane 2는 Ni2, lane 3은 Ni4, lane 4는 Ni5, lane 5는 Ni6, lane 6은 Ni7)

유전자 분석으로 동정된 결과는 <표 3-2-27>에 수록되어 있는 바와 같이 44개의 바실러스균주는 모두 Group II *Bacillus* 즉 *Bacillus subtilis* group에 속하는 것이었으며(<표 2-1-1> 참조) 6종류로 구분할 수 있었다. 확인된 바실러스 종은 *B. subtilis*, *B. subtilis*와 유전적으로 매우 가까운 *Bacillus* sp. strain TKSP24, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. vallismortis*, *B. licheniformis*이었다. 이 가운데서도 특히 *B. subtilis* 계열이 33개로서 전체의 3/4를 차지하였다. 이들 바실러스균들은 모두 공기가 없는 혐기성환경에서도 생장이 가능하다는 특징을 지니고 있어 DO 농도가 아주 낮거나 거의 무산소 조건인 RABC 생물막 깊은 곳에서도 서식할 수 있는 바실러스 종들이 주류를 이루는 것으로 판단된다.



<표 3-2-27> RABC 생물막에서 배양된 바실러스균주의 DNA 분석에 의한 동정 결과

순서	균주 이름	프라이머 종류	분석에 이용된 염기수(bp)	유전적으로 가장 가까운 바실러스균주	일치염기수/ 비교염기수	염기일치도	바실러스 종류기호
1	Ni1	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	602/613	98%	A
2	Ni2	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	576/583	98%	A
3	Ni4	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	589/596	98%	B
4	Ni5	Bacteria	640	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain CMB01	591/617	95%	C
5	Ni6	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	584/600	97%	A
6	Ni7	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	598/608	98%	B
7	Ni8	Bacteria	640	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain CMB01	597/606	98%	C
8	Ni9	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	563/567	99%	B
9	Ni10	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	574/590	97%	A
10	Ni11	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	494/512	96%	B
11	Ni12	Bacteria	640	<i>Bacillus megaterium</i> strain KL-197	625/636	98%	D
12	Ni13	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	600/606	99%	A
13	Ni14	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	606/617	98%	A
14	Ni15	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	605/613	98%	A
15	Ni16	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	606/613	98%	B
16	Ni17	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	625/635	98%	A
17	Ni18	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	628/635	98%	B
18	Ni20	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	516/548	94%	A
19	Ni21	Bacteria	640	<i>Bacillus licheniformis</i> strain KL-164	624/635	98%	A
20	Ni22	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	594/606	98%	B
21	Ni23	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	620/626	99%	B
22	Ni26	Bacteria	640	<i>Bacillus vallismortis</i>	599/606	98%	E
23	Ni27	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	561/574	97%	A
24	Ni28	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	610/627	97%	B
25	Ni29	Bacteria	640	<i>Bacillus licheniformis</i> strain KL-164	575/581	98%	F
26	Ni30	Bacteria	640	<i>Bacillus licheniformis</i> strain KL-164	628/636	98%	F
27	Ni32	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	532/560	95%	B
28	Ni33	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	575/581	98%	A
29	Ni34	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	610/623	97%	B
30	Ni35	Bacteria	640	<i>Bacillus licheniformis</i> strain KL-164	607/613	99%	F
31	Ni36	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	529/537	98%	A
32	Ni37	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	577/599	96%	A
33	Ni40	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	525/537	97%	A
34	Ni41	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	586/598	97%	A
35	Ni42	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	562/587	95%	B
36	Ni43	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	542/551	98%	A
37	Ni45	Bacteria	640	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain CMB01	600/610	98%	C
38	Ni48	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	551/559	98%	B
39	Ni49	Bacteria	640	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain CMB01	556/561	99%	C
40	Ni50	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	547/559	97%	A
41	Ni51	Bacteria	640	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24	575/580	99%	B
42	Ni52	Bacteria	640	<i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 21331	586/605	97%	A
43	Ni53	Bacteria	640	<i>Bacillus vallismortis</i>	599/608	98%	E
44	Ni56	Bacteria	640	<i>Bacillus vallismortis</i>	554/557	99%	E

6종류 9개의 바실러스균에 대하여 API 50CH kit(BioMerieux, France)를 사용하여 다양한 탄수화물을 산화 또는 발효시킬 수 있는 능력 즉 생화학적 및 생리학적 특성을 조사하여 <표 3-2-28>에 나타내었다. 이들의 탄수화물 이용 능력은 대체로 비슷하였지만 16S rDNA 염기서열이 *B. megaterium*으로 동정된 Ni12의 탄수화물 이용능력은 탁월하였다. 즉 49종의 실험대상 탄수화물 가운데 2-ceto-gluconate를 제외한 48종 탄수화물을 모두 분해할 수 있는 능력을 나타내었다. 이 균주는 다양한 종류의 탄수화물 특히 난분해성 탄수화물을 분해할 수 가능성이 매우 높기 때문에 미생물 특허출원이 가능할 것으로 생각된다.

이러한 탄수화물의 분해 능력을 이용하여 바실러스 종을 동정하는데 현재 이용되고 있다. 그러나 <표 3-2-28>에서 나타난 바실러스종의 동정 결과에서 보듯이 데이터베이스에 수록된 바실러스종과 부합되는 종류는 거의 없었으며(8종) 나머지 1종 역시 동정 결과는 DNA에 의한 동정 결과와 일치하지 않아 탄수화물 분해 능력으로 자연계에서 검출된 바실러스종의 동정은 거의 불가능한 것으로 나타났다.

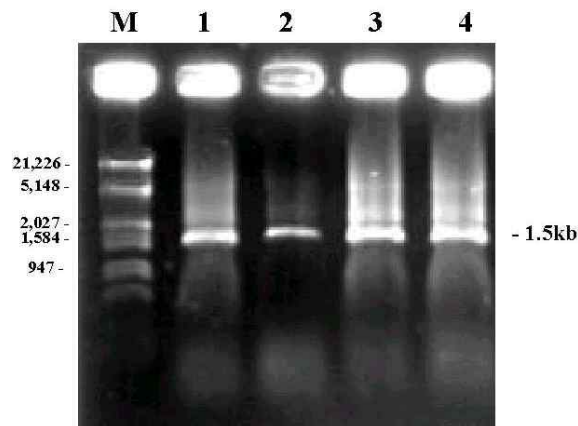
<표 3-2-28> RABC 생물막에서 분리된 바실러스균의 탄수화물 분해능력 및 이에 근거한 동정결과

균주 기호	Glycerol	Erythritol	D- Arabinose	L- Arabinose	Ribose	D- Xylose	L-Xylose	Adonitol	β-Methyl-x yloside	Galactose	D- Glucose	D- Fructose	D-Mannose
Ni5	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Ni7	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Ni9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Ni12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ni21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ni26	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Ni30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Ni48	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Ni52	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
균주 기호	L- Sorbitol	Rhamnose	Dulcitol	Inositol	Mannitol	Sorbitol	α-Methyl-D- mannoside	α-Methyl-D- glucoside	N-acetyl- glucosamine	Amygdaline	Arbutine	Esculine	Salicine
Ni5	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Ni7	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
Ni9	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Ni12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ni21	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
Ni26	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Ni30	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Ni48	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
Ni52	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
균주 기호	Cellobiose	Maltose	Lactose	Melibiose	Saccharose	Trehalose	Inuline	Melezitose	D- Raffinose	Amidon	Glycogen	Xylitol	β-Genitiobiose
Ni5	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
Ni7	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
Ni9	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
Ni12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ni21	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Ni26	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Ni30	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Ni48	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Ni52	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
균주 기호	D- Turanose	D- Lyxose	D- Tagatose	D- Fucose	L- Fucose	D- Arabitol	L- Arabitol	Gluconate	2-ceto- gluconate	5-ceto- gluconate	API 동정결과		참조
Ni5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	불일치		
Ni21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	불일치		
Ni52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus megaterium</i>		신뢰할 수 없음

(다) 생물막의 DNA 분석으로 밝혀진 세균 종류

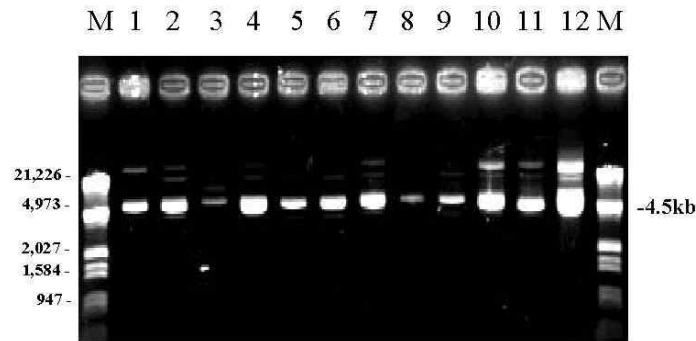
RABC 공정의 생물막 미생물을 배양하지 않고 생물막 시료에서 직접 미생물 DNA를 추출하여 16S rDNA를 증폭한 후 plasmid에 삽입한 후 증폭된 16S rDNA products가 삽입된 plasmid를 가진 다양한 클론(clones)의 16S rDNA PCR products의 염기서열을 분석함으로써 생물막 미생물 군집 구조를 알아볼 수 있는 계통분류를 실시하였다.

생물막에서 추출한 DNA를 주형으로 PCR 기법으로 몇 차례 증폭한 결과 <그림 3-2-62>와 같은 약 1.5 kb의 원하는 16S rDNA 증폭 산물이 agarose gel 상에서 확인되었다.



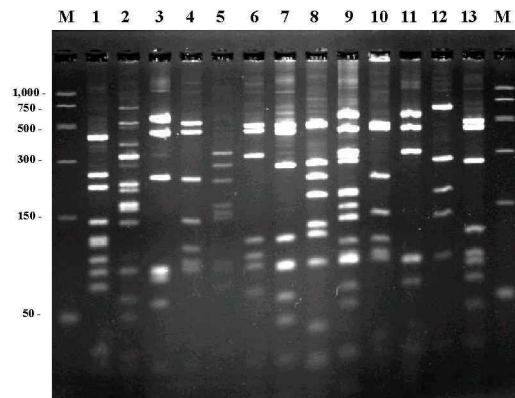
<그림 3-2-62> RABC 생물막에서 직접 추출한 16S rDNA의 PCR 증폭 산물(Lane M은 size mark, lane 1은 시료 1, lane 2는 시료 2, lane 3은 시료 3, lane 4는 시료 4)

PCR로 얻은 16S rDNA 증폭 산물을 정제하여 pGEM-T plasmid vector를 이용하여 *E. coli* DH5a competent cell에 여러 차례에 걸쳐 형질전환시켰는데 형질전환이 성공적으로 일어나 4.5 kb 크기의 PCR 산물이 얻어진 클론만을 선별한 결과 모두 155개의 clone library를 얻을 수 있었다. <그림 3-2-63>은 성공적인 형질전환이 일어난 155개의 clone library 가운데 12개 clone의 편입된 plasmid를 증폭한 agarose gel 사진으로서 모든 clone이 4.5 kb의 DNA band를 나타냄으로써 형질전환이 성공했음을 보여주고 있다.



<그림 3-2-63> 원하는 16S rDNA가 삽입되어 있는 12개 clone의 약 4.5 kb 크기의 plasmid 증폭 산물(상단 및 하단의 2단으로 구성; Lane M은 size mark, lane 1에서 12까지는 각 clone에서 증폭된 plasmid)

155개의 clone library에서 추출한 plasmid를 대상으로 삽입된 16S rDNA의 염기서열을 분석해야 하는데 이들 클론 가운데는 같은 동일한 세균의 유전자가 가지고 있을 확률이 크므로 155개 클론의 유전자 다양성을 먼저 검토하여 서로 다른 유전자를 가진 클론만을 대상으로 염기서열을 분석하는 것이 시간이나 비용 측면에서 이익이다. 이를 위해서 155개 clone library에서 추출한 plasmid를 *Hae*III 제한효소로 잘라 나타나는 band의 수나 크기에 있어서의 다양성을 비교 평가하여 동일 유전자를 가진 종을 분류하는 RFLP를 실시하였다. 그 결과 78종류의 서로 다른 RFLP 패턴을 확인되어 78종류의 계통형(phylotype)을 대상으로 염기서열 분석을 실시하였다. 계통형을 구성하는 clone의 수가 1개나 2개인 경우 모든 clone에 대한 염기서열을 분석하였고, 3개 이상의 clone으로 구성되는 계통형의 경우 2~4개의 clone을 임의로 선정하여 염기서열을 분석하였다. <그림 3-2-64>는 155개 clone library의 RFLP 패턴 가운데 패턴이 각기 다른 13개 clone의 RFLP 패턴을 agarose gel에서 보여 주는 사진이다.



<그림 3-2-64> 형질전환된 plasmid의 유전자 다양성을 보여주는 clone별 RFLP 패턴(Lane M은 size mark, lane 1에서 13은 13종류의 clone)

78개의 계통형별 clone에 대하여 16S rDNA의 염기서열을 분석한 결과는 <부록>에 수록하였으며 이를 정리한 것이 <표 3-2-29>이다. 그리고 검출된 세균의 주요 특징은 <표 3-2-30>에 나타내었다. 생물막에서 가장 많이 검출된 세균은 클로스트리디움균(clostridia)으로서 전체의 38%, 다음이 박테로이드균(bacteroides)으로서 18%를 차지하였는데 이들은 모두 절대 혐기성 세균이다. 그리고 바실러스균은 5%(5개)가 검출되었다. 생물막 미생물의 DNA 분석에 의한 동정 결과 종이 확인된 96개 클론 가운데 혐기성 세균(Clostridia, Bacteroidetes)은 58%(56개), 통성혐기성(Bacilli, *Aeromonas*, *Rhodoferrax*, *Verrucomicrobia*)은 10%(9개), 호기성은 32%(31개)로서 혐기성세균의 비율이 호기성세균의 거의 2배에 달하였다. 공기와 접촉되는 생물막 표면은 호기적(aerobic, oxic) 조건을 유지하고 있지만 생물막 내부로 들어갈수록 공기가 확산되지 않아 혐기적(anaerobic) 조건을 유지하게 된다. 따라서 생물막은 혐기적 환경을 유지하고 있는 부분이 상대적으로 더욱 많으며 그 결과 혐기성 미생물 집단의 비율이 더욱 높게 나타나는 것으로 생각된다. 이것은 절대호기성이 대부분인 *Bacillus* 속 가운데 RABC 생물막에서 검출된 종류는 무산소 환경에서도 자랄 수 있는 통성혐기성인 Group II *Bacillus*(제2장 <표 2-1-1> 참조)만이 검출된 것에서도 입증된다.

<표 3-2-30>에 나타난 생물막에서 검출된 세균집단의 특성을 살펴보면 견고한 생물막 매트릭스를 유지하게 하는 사상균(filamentous bacteria)들이 많이 나타나고

있다. 특히 RABC 생물막 세균들은 다양한 물질분해능력 뿐만 아니라 많은 종류들이 인(phosphorus) 저장, 질화(nitrification) 및 탈질(denitrification), 난분해성물질(농약, 부식산, 레진) 분해, 휘발성 악취유발물질(메탄, 휘발성 기체) 분해, 독성물질(과산화염소)이나 중금속(우라늄) 축적, 황 축적과 같은 고도처리능력을 가지고 있는 세균집단들과 극히 비슷한 유전자를 가지고 있는 것으로 확인되었다(Holt 등, 1994; Krieg 와 Holt, 1984; NCBI, 2003; Sneath 등, 1986; Starr 등, 1981, Williams 등, 1989). 그리고 생물막 세균집단들은 주로 중온성(mesophiles)이기는 하지만 저온성(psychrophiles)이나 고온성(thermophiles) 세균집단들과도 상동성이 매우 큰 종류도 검출되었다. 이런 미생물 집단의 DNA가 검출되었다는 것은 본 RABC 공정이 고도처리능력이 우수하다는 사실을 입증해 주고 있다.

<표 3-2-29> RABC 생물막에서 검출된 클론의 DNA 분석에 의하여 동정된 세균

문 (Phylum)	강(Class)	아강 (Subclass)	목(Order)	아목 (Suborder)	과(Family)	속(Genus)	종(Species)	클론수 (개)	비율 (%)
Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. carboxidivoras</i> <i>C. aff. essectheticum</i> <i>C. difficile</i> <i>C. lacustryxellense</i> <i>C. lavosporum</i> <i>C. gasigenes</i> <i>C. bowmanii</i> <i>C. pumiceum</i> <i>Clostridium</i> sp. 25	27	26.7
					Acidamino- coccaceae	<i>Acidaminococcus</i>	<i>A. fermentans</i>	1	1.0
							environmental samples	10	9.9
			소계					38	37.6
	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i> <i>Bacillus</i> sp.	5	4.9
			Lactobaci- llales		Lactobaci- llaceae	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. curvatus</i>	1	1.0
			소계					6	5.9
	소계							44	43.5
Bacteroi- detes							environmental samples	17	16.8
Proteo- bacteria	Gamma- proteobacteria		Aeromona- dales		Aeromona- daceae	<i>Aeromonas</i>	<i>A. veronii</i>	1	1
			Xantho- monadales		Xantho- monadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>S. minatitlanensis</i>	1	1
						<i>Xanthomonas</i>	<i>X. campestris</i> <i>X. axonopodis</i>	2	2
			Pseudo- monadales		Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.	1	1
			Altero- monadales		Altero- monadaceae	<i>Marinobacter</i>	<i>Marinobacter</i> sp.	1	1
						<i>Thermomonas</i>	<i>T. fusca</i>	1	1
			Thiotri- chales		Thiotri- chaceae	<i>Thiothrix</i>	<i>T. eikelboomi</i>	1	1
			소계					8	7.9
	Beta- proteobacteria		Burkhol- deriales		Comamona- daceae	<i>Spharotilus</i>	<i>Spharotilus</i> sp. IF5	1	1
						<i>Rhodoferrax</i>	<i>R. fermentans</i>	1	1
						<i>Leptothrix</i>	<i>L. discophora</i>	1	1
			Nitroso- monadales		Nitroso- monadaceae	<i>Nitrosomonas</i>	<i>Nitrosomonas</i> sp.	1	1
			Rhodo- cyclales		Rhodo- cyclaceae	<i>Zoogloea</i>	<i>Z. resiniphila</i> <i>Z. ramigera</i>	2	2
						<i>Dechloromonas</i>	<i>Dechloromonas</i> sp.	2	2
							environmental samples	4	4
			소계					12	11.9
	Alpha- proteobacteria		Caulobac- terales		Caulobac- teraceae	<i>Caulobacter</i>	<i>Caulobacter</i> sp. enviromental samples	2	2.0
			Rhizobiales		Methylocysta- ceae	<i>Methylocystis</i>	<i>Methylocystis</i> sp.	1	1.0
							environmental samples	2	2.0
			소계					5	4.9
	Delta- proteobacteria						environmental samples	2	2.0
	소계							27	26.7
Plancto- mycetes	Plancto- mycetacia		Plancto- mycetales		Plancto- mycetaceae	<i>Planctomyces</i>	<i>Planctomyces</i> sp.	1	1.0
							environmental samples	3	3.0
	소계							4	4.0
Actino- bacteria	Actino- bacteria	Actino- bacteridae	Actino- mycetales	Coryne- bacterineae	Mycobacteria- ceae	<i>Mycobacterium</i>	<i>M. austroafricanum</i>	1	1.0
Nitrospirae	Nitrospira		Nitrospira- les		Nitrospira- ceae	<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospira</i> sp.	1	1.0
Verruc- microbia							environmental samples	1	1.0
environ- mental samples								3	3.0
no matches, chimera, or contaminated								3	3.0
계								101	100.0



<표 3-2-30> RABC 생물막에서 DNA 분석으로 확인된 세균의 특징

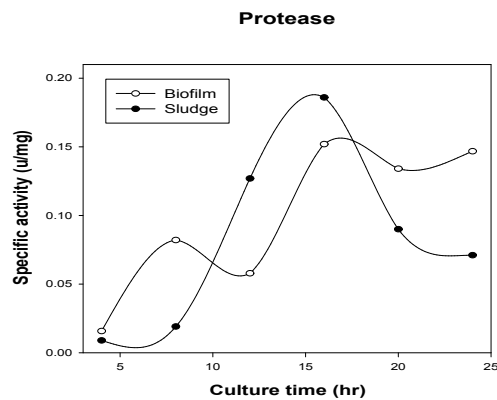
세균 종류	주요 특징					
	산소이용여부	내포자	Gram 특성 및 형태	탄소원	물질분해능력	고도처리능력
<i>Clostridium</i>	대개 혐기성, 절대 혐기성도 있음	○	대체로 양성, 간균이지만 다형	대개 화학유기종속영양성, 독립영양성도 있음	탄수화물(당), 단백질, 유기산, 배설물 분해	부패성, 질산염 환원, 황화수소 생성, 혐기성 발효, 고온성(보온)과 저온성
<i>Bacteroidetes (Bacteroides)</i>	절대 혐기성	×	음성, 간균이지만 다형	화학유기종속영양성	탄수화물, 펩톤, 강력 한 당 발효능력	인, 제거 및 질산염 환원; 산업체 휘발성 유기물 제거용 생물막에서 흔히 발견
<i>Bacillus</i>	대개 호기성, 통성 혐기성도 있음	○	양성 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물 산화 혹은 발효	무산소 환경에서 질산염이나 황화수소 생성
<i>Lactobacillus</i>	통성 혐기성이지만 호기성	×	양성 간균	화학유기종속영양성 으로서 고형양성	탄수화물(주로 당) 발효로 젖산 생성	호산성 발생 (장내세균); 저온
<i>Acidaminococcus</i>	혐기성	×	음성 구균	화학유기종속영양성	간단한 탄수화물(주로 aconitate) 발효; 에너지원으로 아미노산 이용	장내세균
<i>Aeromonas</i>	통성 혐기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	탄수화물, 젤라틴	질산염 환원; 저온성도 있음
<i>Stenotrophomonas</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물	탈질
<i>Xanthomonas</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	다양한 탄수화물 및 유기산	하수슬러지에서 흔히 발견
<i>Acinetobacter</i>	호기성	×	음성이지만 때론 환경 곤란, 간균	화학유기종속영양성	다양한 유기물을 이 용하거나 모든 생체계에서 검출	복합인산염입자 축적
<i>Marinobacter</i>	주로 호기성 이지만 호기성 호흡 가능	×	음성 간균	화학유기종속영양성	다양한 탄수화물 이 용	탈질; 부식성 분해; 지수성 분해; 생물막 생성; 내염성
<i>Thermomonas</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성		탈질세균
<i>Thiothrix</i>	호기성	×	음성, 껍질을 가진 사상균, 활주세균	혼합영양성		사상균(펩티도분해)으로 고온성 생물막 유지; 황 입자 축적
<i>Sphaerotilus</i>	호기성, 미호 기성	×	음성, 껍질을 가진 사상균	화학유기종속영양성	알코올, 유기산, 당	사상균(펩티도분해)으로 견고한 생물막 유지; PHB 축적
<i>Rhodoferrax</i>	통성 혐기성	×	음성 간균	광영양성	아세트산 산화, 산화 철 환원	저온성(남극미생물매트)
<i>Leptothrix</i>	호기성	×	음성, 껍질을 가진 사상균	화학유기종속영양성	당, 유기산, 글리세롤, 유기질소	종속영양성 탈질; PHB 축적; 망간 산화
<i>Nitrosomonas</i>	호기성	×	음성 간균	화학무기독립영양성	요소 분해	암모니아 산화(질화)
<i>Zoogloea</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	다양한 탄수화물, 펩톤, 젤라틴, 요소, 벤젠, 고형양성	탈질; 산성화된 분해; 세포외중합체 분비; PHB 축적
<i>Dechloromonas</i>	호기성	×	양성 간균	화학유기종속영양성		과산화염소(perchlorate) 분해
<i>Caulobacter</i>	호기성	×	음성 간균(자루 있음)	화학유기종속영양성	빈영양성	메탄생성
<i>Methylocystis</i>	호기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	메탄	메탄산화
<i>Planctomyces</i>	호기성	×	음성, 구균이거나 나선형(자루 있음)	화학유기종속영양성		RBC 생물막에서 독립 영양적 산화망간 축적
<i>Mycobacterium</i>	호기성	×	그람염색 잘 안되지만 양한 양성, 간균(항산성)	화학유기종속영양성	극히 느린 생장	PAH(다중 방향족 화합물) 분해
<i>Nitrospira</i>	호기성	×	음성, 나선균, 비브리오균	화학무기독립영양성 이지만 혼합영양성 가능	질산염이 에너지원, NaCl 요구	아질산염 산화(질화)
Betaproteobacteria						질화, 탈질, 인 제거; SPR, 환원성 처리장, 활성슬러지에서 검출
Deltaproteobacteria						우라늄 제련(미생물제련)
Alphaproteobacteria						우라늄 제련(미생물제련)
Verrucomicrobia	통성 혐기성	×	음성 간균	화학유기종속영양성	당	질화 및 탈질; 황화수소 발생
미분류종						하수슬러지나 폐수처리장에서 검출

나. 오염물질 처리능력이 탁월한 미생물 탐색 및 분리

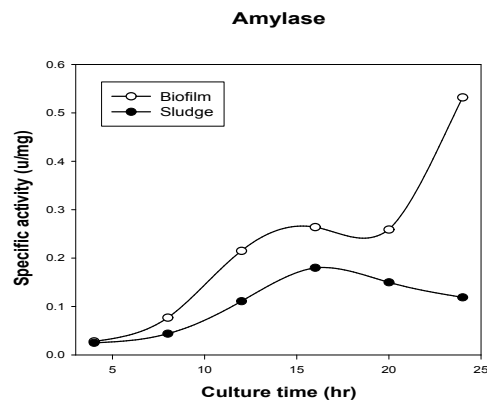
(1) 유기물 분해 능력

(가) 처리 단계별 유기물의 분해능

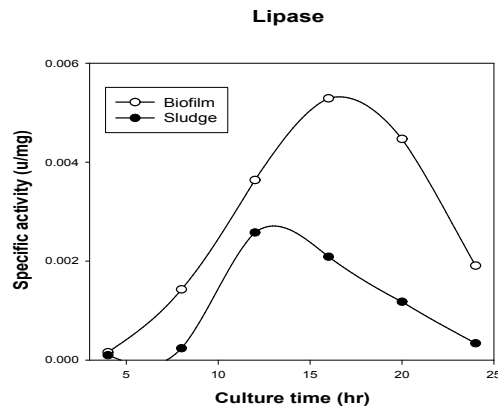
단백질 분해효소의 역가는 <그림 3-2-65>에서와 같이 생물막과 슬러지에서 배양 후 16 시간 만에 최대의 활성을 나타내었으며, 슬러지에서 약간 높은 수치를 보였다. 녹말 분해효소의 활성도는 슬러지의 경우에는 단백질 분해효소의 경우와 같이 배양 후 16 시간에서 최대의 활성을 보이고, 점차 감소하는 양상을 보였으나, 생물막의 경우는 배양 후 24 시간에 매우 높은 활성을 나타내었다(그림 3-2-66). 한편, 지방 분해효소의 경우도 녹말 분해효소와 동일하게 생물막에서 더 높은 활성을 보였으며, 12~16 시간 후에 최대의 활성을 나타내었다(그림 3-2-67).



<그림 3-2-65> RABC 공정의 생물막 및 슬러지의 단백질 분해효소 활성도



<그림 3-2-66> RABC 공정의 생물막 및 슬러지의 녹말 분해효소 활성도



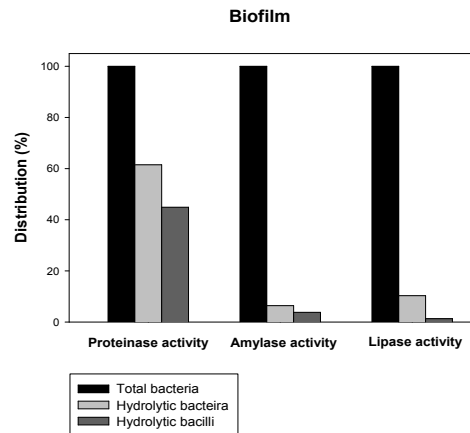
<그림 3-2-67> RABC 공정의 생물막 및 슬러지의 지방 분해효소 활성도

#### (나) 유기물 분해 바실러스균의 분리 및 분포

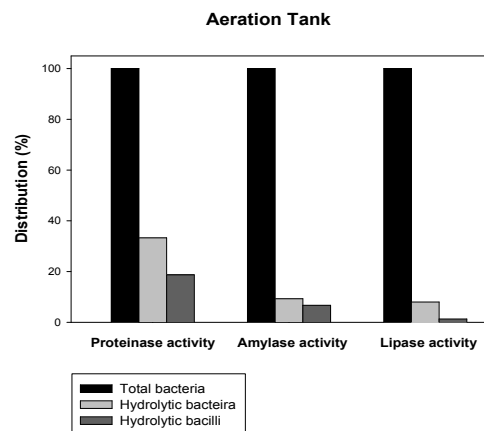
RABC 생물막에서 분리한 바실러스균 특성을 지닌 콜로니 78개 가운데 단백질 분해능을 지닌 세균은 48개(61.5%)였고, 이 가운데 바실러스균은 35개로 44.9%를 점유하였다. 녹말 분해능을 지닌 콜로니 수는 5개로 6.4%이었으며, 녹말 분해 바실러스균은 3개로 3.8%에 불과하였다.

지방 분해능을 지닌 콜로니 수도 매우 적은 8개로 10.3%이었으며, 이 가운데 바실러스균은 1개에 불과하였다(그림 3-2-68). 생물반응조에서 분리한 바실러스균으로 추정된 콜로니 개수는 총 75개였으며, 이 가운데서 내생포자가 확인된 바실러스균 콜로니 수는 37개였다. 단백질 분해능을 지닌 콜로니 수는 25개로 33.3%의 비율로 나타났고, 단백질 및 녹말 분해능을 모두 지닌 바실러스균은 14개로 18.7%를 차지하였다. 녹말 분해 콜로니 수는 7개였으며, 이 가운데 바실러스균은 5개로 6.7%이었다. 지방 분해능을 지닌 콜로니 수는 생물막과 비슷하게 매우 낮은 수준이었다(그림 3-2-69).

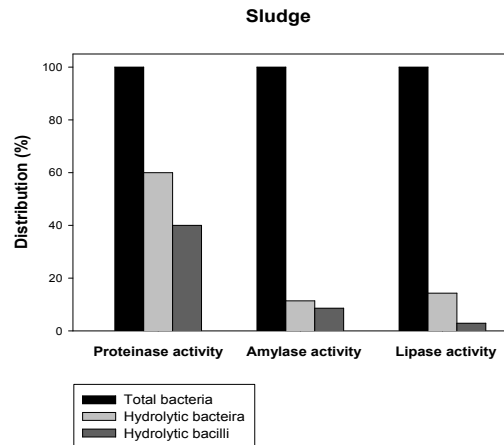
한편 슬러지에서 분리된 유사 바실러스균 콜로니 수는 총 70개였는데 이 가운데 단백질 분해능을 지닌 콜로니 및 바실러스균 비율은 각각 60%와 40%이었다. 전분 분해능이 있는 colony는 8개로 11.4%이었으며, *Bacillus*는 6개였고, 지방 분해능을 지닌 colony는 10개와 2개로 14.3% 및 2.9%의 비율이었다(그림 3-2-70). 이상의 결과로 RABC에 존재하는 유기물 분해능이 있는 미생물 중에서 단백질 분해능을 지닌 미생물이 가장 높은 비율로 우점하고 있음을 알 수 있었고, *Bacillus* 또한 단백질 분해에 중요한 역할을 담당하고 있을 것으로 판단된다.



<그림 3-2-68> RABC 공정의 생물막에 포함된 유기물 분해 세균 및 바실러스균 비율



<그림 3-2-69> RABC 공정의 포기조에 포함된 유기물 분해 세균 및 바실러스균 비율



<그림 3-2-70> RABC 공정의 슬러지에 포함된 유기물 분해 세균 및 바실러스균 비율

#### (다) 효소의 활성 염색

유기물 분해효소의 활성도 및 분포를 조사하기 위하여 유기물 분해능이 높은 콜로니를 선별하여 배양한 후 그 배양여액을 전기영동하여 활성 염색을 시도하였다. 효소 활성이 높은 콜로니를 분자생물학적 기법을 사용하여 동정한 결과 바실러스균 계열의 균주는 총 6종으로 *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. vallismortis*, *B. licheniformis* 및 종이 확인되지 않은 1종류의 *Bacillus* 종(*Bacillus* sp.)이었다. 단백질 분해효소의 활성은 바실러스균이 아닌 세균인 NB-76, NAS-10 및 NS-15에서 매우 높은 활성을 보였으며, 분자량이 매우 큰 단백질일 가능성을 보여 주었다(그림 3-2-71). 한편, 녹말 분해효소의 활성은 바실러스균 계열 중에서는 *B. vallismortis*만 활성을 보이지 않았고, 다른 *Bacillus*에서는 거의 비슷한 부위에서 활성 띠가 관찰되었다. 그러나 바실러스균이 아닌 다른 세균 계열의 녹말 분해효소는 전기영동 겔 상에서 거의 이동하지 않아 분자량이 매우 크거나, 매우 높은 전하를 띠고 있을 가능성을 보여주었다(그림 3-2-72). 지방 분해효소의 활성은 전기영동 상에서 관찰할 수 없었는데 활성이 매우 낮아 배양여액을 농축하여야 관찰할 수 있을 것으로 판단된다.



1 2 3 4 5 6

<그림 3-2-71> RABC 공정에서 분리한 6종류 세균의 세포외 단백질 분해효소 활성도(Lane 1, *B. vallismortis*; 2, *B. licheniformis*; 3, *Bacillus* sp.; 4, NB-76; 5, NA4-10; 6, NS-15)



1 2 3 4 5 6 7

<그림 3-2-72> RABC 공정에서 분리한 6종류 세균의 세포외 녹말 분해효소 활성도(Lane 1, *B. subtilis*; 2, *B. amyloliquefaciens*; 3, *B. vallismortis*; 4, *Bacillus* sp.; 5, *B. subtilis*; 6, NA4-10; 7, NS-15)

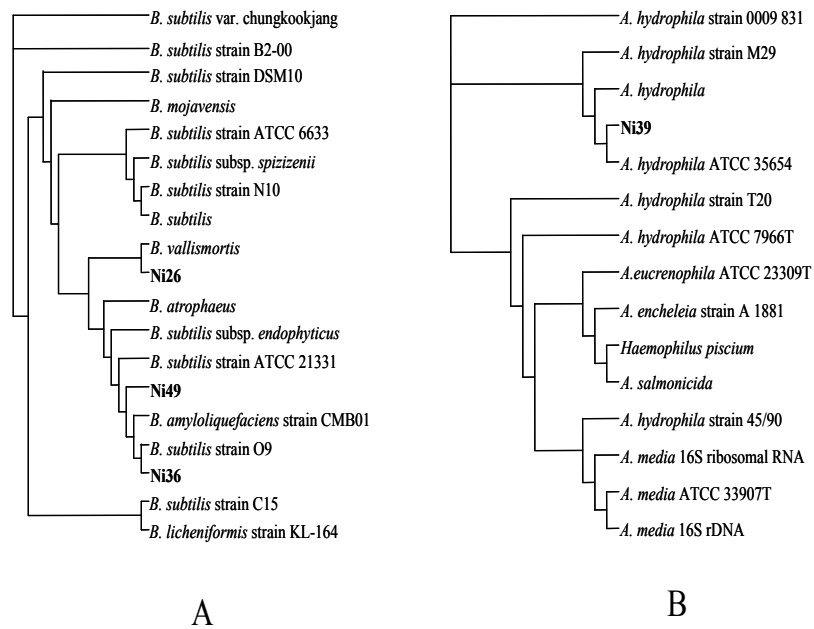
#### (라) 단백질 분해 미생물의 분리 동정 및 특성 규명

RABC 공정에서 분리한 단백질 분해능을 지닌 4종의 세균 중 Ni26, Ni36 및 Ni49는 내생포자를 형성하는 그람양성으로 나타났고, Ni39는 그람음성세균이었으며, 그 밖의 생화학적 특성은 <표 3-2-31>에 나타나 있다. 16S rDNA 분석 결과, Ni26은 *B. vallismortis*, Ni36은 *B. subtilis*, Ni49는 *B. amyloliquefaciens*로 판명되었으며, Ni39는 *Aeromonas hydrophila*로 나타났다(그림 3-2-73). 각 단백질 분해효소의 최적 온도는 Ni26이 가장 낮은 40℃이었으며, Ni36은 비교적 고온인 70℃에서 최대 활성을 보였다(그림 3-2-74). 최적 pH는 균주에 따라 큰 차이가 없이 약알칼리인 pH 8.0-8.5에서 최적을 보였다. 한편, 각종 단백질 분해효소 저해제를 처리하여 효소활성을 관찰한 결과, serine protease 저해제인 PMSF에 의해 4종 모두 단백질 분

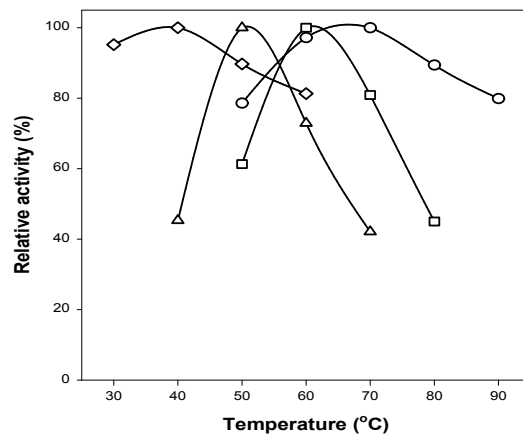
해활성이 저해되었는데 이것은 모두 serine protease를 지니고 있음을 보여주는 것이다. 이밖에도 Ni26, Ni39 및 Ni49는 1,10-phenanthroline에 의해서도 47~50% 활성 저해를 나타내었는데 이것에서 이들 균주는 metalloprotease를 지니고 있음을 알 수 있었다(그림 3-2-75). 효소 활성염색을 통한 분석 결과, 분리된 4종 모두 2개 이상의 단백질 분해효소를 지니고 있었으며, 분자량의 범위도 다양하였다(그림 3-2-76).

<표 3-2-31> 단백질 분해세균의 형태적 및 생화학적 특성

특성	Ni26	Ni36	Ni39	Ni49
Gram 염색	+	+	-	+
내생포자	+	+	-	+
$\beta$ -galactosidase	+	-	+	+
Arginine dihydrolase	-	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	-	-	-
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-
Citrate 이용	+	+	-	+
H <sub>2</sub> S 생성	-	-	-	-
Urease	-	-	-	+
Tryptophane deaminase	-	-	-	-
Indole 생산	-	-	-	-
Acetoin 생산	-	-	-	-
Gelatinase	+	+	+	+
탄수화물 이용여부				
Glucose	+	-	+	+
Mannitol	+	-	+	+
Inositol	+	-	-	+
Sorbitol	+	-	+	-
Rhamnose	+	-	-	-
Sucrose	+	-	+	+
Melibiose	-	-	-	-
Amygdalin	+	-	+	+
Arabinose	+	-	+	+

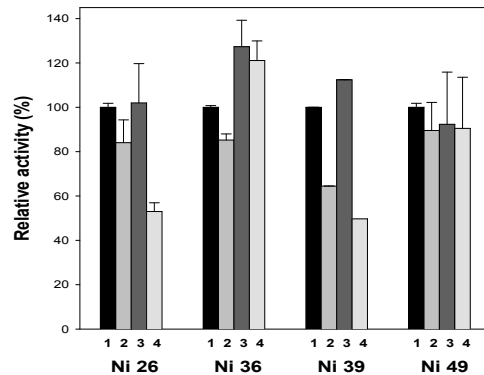


<그림 3-2-73> 단백질 분해능을 가진 바실러스 배양균주(A) 및 *Aeromonas* 배양균주(B)의 16S rDNA 염기서열에 의한 계통수

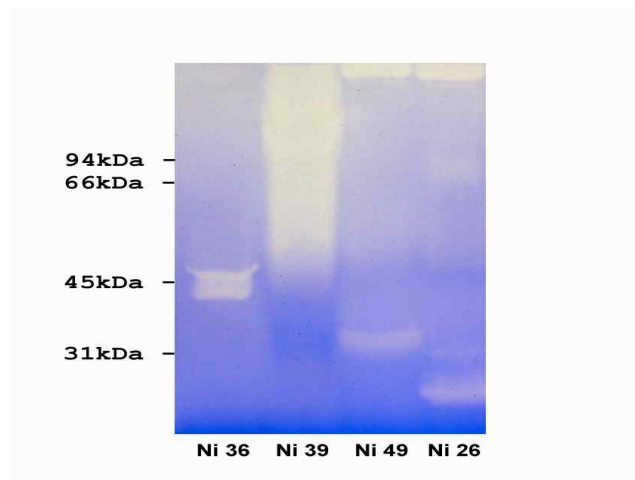


<그림 3-2-74> 단백질 분해균주 Ni26(◇), Ni36(○), Ni39(□), Ni49(△)의 단백질 분해능에 온도가 미치는 영향.





<그림 3-2-75> 단백질 분해효소 저해제가 단백질 분해균주의 활성에 미치는 영향(1, no inhibitor; 2, PMSF; 3, pepstatin; 4, 1,10-phenanthroline)



<그림 3-2-76> 단백질 분해균주 세포가 없는 상층액에서 카제인 분해능을 나타내는 단백질 분해효소의 존재 및 크기

## (2) 고도처리 능력

균주 14종(바실러스균 13, 에어로모나스균 1)의  $\text{NH}_3\text{-N}$  제거 능력은 <표 3-2-32>,  $\text{PO}_4\text{-P}$ 의 제거 능력은 <표 3-2-33>에 나타내었다. 전체적으로 암모니아 보다는 인산염의 제거 능력이 보다 우수하게 나타났다. 암모니아의 제거 능력은 평균 18~68%의 범위를 보였지만 1종 균주 가운데 1종을 제외한 나머지 13종의 암모

니아 최대 제거율이 80% 이상을 나타냄으로써 적절한 환경조건이 갖추어지는 경우 효율적으로 암모니아를 제거한다는 사실을 보여주고 있다. 본 고도처리 능력시험은 연속배양계가 아닌 회분배양계인 플라스크에서 수행되었기 시간이 지날수록 초기의 환경이 변화되기 때문에 일정한 처리효율이 유지되기가 힘들다는 사실을 고려해야만 한다.

인산염 제거효율은 1차년도에 실험하였던 1종의 바실러스균(Ni9)을 제외하면 평균 47~95%의 수준으로 아주 훌륭하였다. 특히 최대 인산염 제거효율이 100%를 보이는 균주도 3종이나 확인되었으며, 4일 동안의 평균제거효율이 95%를 보이는 탁월한 인산염 제거 능력을 가진 바실러스균도 발견되었다.

14종의 실험균주 가운데 질소와 인을 동시에 제거하는 능력이 우수한 것을 추정되는 바실러스균은 7종(Ni8, Ni16, Ni21, Ni26, Ni29, Ni30, Ni32)으로서 특히 *B. licheniformis*, *B. vallimortis*, *B. amyloliquefaciens* 종의 고도처리 능력이 좋게 나타났다. 질소만의 제거 능력이 우수한 종은 4종(Ni9, Ni12, Ni24, Ni52)으로서 *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Bacillus* 종, 그리고 비바실러스균인 *Aeromonas* 종이 여기에 포함되었으며, 인산염만을 잘 제거하는 종류는 3종(Ni2, Ni7, Ni23)이었다. 따라서 실험대상균주 14종은 모두 유기물 분해 능력은 물론 고도처리 능력이 뛰어난 것으로 확인됨으로써 RABC 공정의 종균제로 개발할 필요가 있는 것으로 판단되었다.

<표 3-2-32> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균의 질소 제거능력

균주 기호	균주종명	NH <sub>3</sub> -N 평균제거효율(%)						
		1일후	2일후	3일후	4일후	평균	최대	최소
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	11	39	20	0	18	81	0
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	15	40	49	17	30	88	0
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	53	62	43	28	47	93	12
Ni12	<i>B. megaterium</i>	59	64	39	27	50	93	13
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	45	59	43	42	47	89	13
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	51	67	56	48	55	91	11
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	11	41	39	13	26	88	5
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	49	60	44	40	48	89	9
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	55	62	36	25	45	91	18
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	49	64	34	35	46	91	7
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	53	60	21	8	36	92	8
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	44	62	27	10	36	86	10
Ni9	<i>Bacillus</i> sp.	24	70	-	-	47	70	24
Ni52	<i>B. subtilis</i>	46	90	-	-	68	90	46

<표 3-2-33> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균의 인 제거능력

균주 기호	균주종명	PO <sub>4</sub> -P 평균제거효율(%)						
		1일후	2일후	3일후	4일후	평균	최대	최소
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	63	86	66	93	77	96	53
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	67	77	74	76	73	98	50
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	55	72	82	75	71	87	22
Ni12	<i>B. megaterium</i>	49	45	40	54	47	71	27
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	56	77	49	20	50	82	20
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	79	89	77	81	81	99	60
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	55	89	75	79	75	97	33
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	57	63	68	100	72	100	41
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	85	94	100	100	95	100	71
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	55	52	100	62	68	100	24
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	79	84	47	14	56	94	14
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	48	34	75	86	61	87	8
Ni9	<i>Bacillus</i> sp.	0	0	-	-	0	0	0
Ni52	<i>B. subtilis</i>	55	50	-	-	53	55	50

한편으로 RABC 공정에서 검출된 미생물 가운데 기존 연구보고자료나 데이터베이스 상에서 질소나 인에 대한 고도처리 능력이 있는 것으로 확인된 종류는 앞에서 언급한 <표 3-2-26>와 <표 3-2-29>에 자세히 언급되어 있다. 즉 배양 검출된 종속영양세균 가운데는 *Aeromonas*, *Corynebacterium*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Acidovorax*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* 등의 세균이 세포내 인산염 축적이나 탈질, 질산염 환원과 같은 고도처리 능력을 갖고 있으며, DNA 분석으로 확인된 세균 가운데서 고도처리 능력이 있는 종류로는 *Clostridium*, *Bacteroides*, *Aeromonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Marinobacter*, *Thermomonas*, *Leptothrix*, *Nitrosomonas*, *Zoogloea*, *Planctomyces*, *Nitrospira*, betaproteobacteria, verrucomicrobia 등이 있다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 본 RABC 공정 특히 생물막에는 고도처리 능력이 이미 검증되었거나 본 연구에서 확인된 종류가 많이 서식하고 있기 때문에 본 RABC 장치는 질소나 인을 효과적으로 제거할 수 있는 고도처리용 하수처리공정으로 적합한 것이다.

다. 종균제 생산을 위한 바실러스균의 포자화

RABC 공정의 핵심은 고도처리능력이 탁월한 바실러스 균수나 생물량(바이오매

스, 생체량, biomass)을 RABC 생물막에 극대화시키는 기술이다. 본 연구에서는 고도처리능력이 검증된 다량의 바실러스균 영양세포를 대량으로 내생포자로 만드는 포자화(sporulation) 기법을 사용하여 만든 바실러스균 포자 종균제를 RABC 공정에 접종하면 생물막에 바실러스균을 극대화시킬 수 있을 것으로 판단하였다. 포자 종균제가 유리한 점은 포자화 환경이 보통의 미생물은 성장할 수 없는 열악한 환경이므로 보통의 환경조건에서도 다른 미생물에 의한 오염 없이 바실러스균만으로 구성된 종균제를 만들 수 있다는 점이다.

포자화 기법은 바실러스균의 영양세포와 내생포자의 수를 극대화할 수 있는 농화배양 조건, 영양세포를 가장 효과적으로 포자화할 수 있는 환경 조건의 확립 등이 포함된다.

#### (1) 바실러스균의 포자화 배지에서의 배양시간 결정

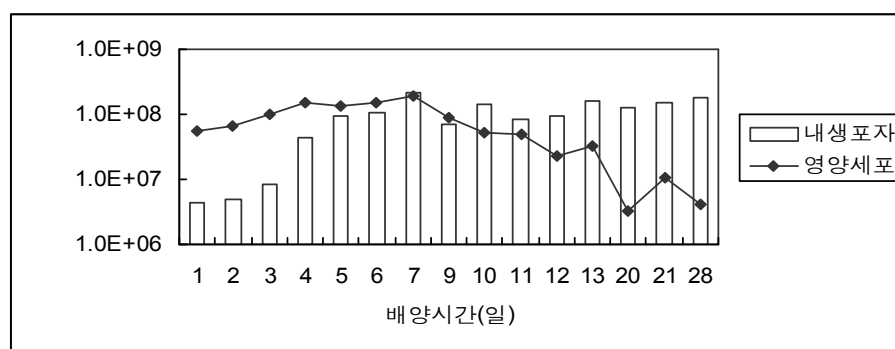
*B. thuringiensis*의 1차 농화배양액을 포자화 배지에 접종하고 28일 동안 배양하면서 날짜별로 형성되는 영양세포수와 내생포자수를 <표 3-2-34>에 나타내었다. 이것은 포자화 실험을 할 때 최대의 내생포자수를 얻을 수 있는 배양시간을 결정하기 위한 것이다. <그림 3-2-77>은 <표 3-2-34>의 ml 당 내생포자수와 영양세포수만을 나타낸 것으로서 배양 3일 후부터 영양세포수와 내생포자수를 합한 총바실러스균수가  $10^8$  cell/ml을 넘어섰고 이후 28일 후까지 그 이상 유지되었다. 영양세포수는 배양 3일 후에  $10^8$  cell/ml을 넘어섰고 7일 후에는 최대값에 도달한 이후 계속해서 감소된 반면 내생포자수는 배양 4일 후에  $10^7$  cell/ml을 넘어섰는데 이는 배양 3일 후보다는 현저하게 증가한 값이다. 배양 5일 후부터 28일까지의 내생포자수는 다소의 증감이 있기는 하지만 대체로  $10^8$  cell/ml 수준을 일정하게 유지하였다. 이런 내생포자수의 약간의 증감은 계수에 필요한 시료량이  $2.5\mu\text{l}$ 로서 극히 적은 양이기 때문에 평균값에서 벗어날 확률이 높기 때문이다. 이런 것을 고려하면 배양 5일 후부터의 내생포자수는 일정하게 유지되는 것으로 판단된다.

바실러스균의 포자화를 위한 배양시간 결정에 가장 중요한 사항은 영양세포수와 내생포자수를 합한 총바실러스균수이고 다음이 영양세포수이다. 내생포자수의 중요도가 상대적으로 낮은 것은 포자화 기법을 사용하면 훨씬 빠른 시간 안에 영양세포를 내생포자로 만들 수 있기 때문에 포자화 기법에 의한 영양세포의

내생포자화가 더 바람직하기 때문이다. 배양 4일 후의 총바실러스균수가  $1.9 \times 10^8$  cell/ml로서 전날의 2배, 영양세포수  $1.5 \times 10^8$  cell/ml로서 전날의 1.5배, 내생포자수  $4.5 \times 10^7$  cell/ml로서 전날의 5.4배였고, 포자화율 역시 22%로서 비교적 낮았다. 앞에서 언급한 포자화 배양시간 결정 요인을 감안할 때 배양 4일 후의 바실러스균 농화배양액을 포자화시키는 것이 빠른 시간 안에 가장 많은 내생포자를 얻을 수 있을 것으로 판단되었다.

<표 3-2-34> 바실러스균 영양세포수와 내생포자수의 배양시간별 변화

배양시간 (일)	영양세포수		내생포자수		총바실러스균수 (cell/ml)	포자화율 (%)
	(cell/field)	(cell/ml)	(cell/field)	(cell/ml)		
1	11	$5.6 \times 10^7$	1	$4.5 \times 10^6$	$6.1 \times 10^7$	7
2	13	$6.6 \times 10^7$	1	$5.0 \times 10^6$	$7.1 \times 10^7$	7
3	20	$1.0 \times 10^8$	2	$8.3 \times 10^6$	$1.1 \times 10^8$	7
4	29	$1.5 \times 10^8$	9	$4.5 \times 10^7$	$1.9 \times 10^8$	23
5	26	$1.3 \times 10^8$	19	$9.7 \times 10^7$	$2.3 \times 10^8$	42
6	29	$1.5 \times 10^8$	21	$1.1 \times 10^8$	$2.6 \times 10^8$	42
7	37	$1.9 \times 10^8$	41	$2.1 \times 10^8$	$4.0 \times 10^8$	52
9	17	$8.9 \times 10^7$	14	$7.2 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8$	45
10	10	$5.1 \times 10^7$	28	$1.5 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$	74
11	10	$4.9 \times 10^7$	17	$8.6 \times 10^7$	$1.3 \times 10^8$	63
12	4	$2.2 \times 10^7$	18	$9.3 \times 10^7$	$1.1 \times 10^8$	81
13	6	$3.2 \times 10^7$	31	$1.6 \times 10^8$	$1.9 \times 10^8$	83
20	1	$3.3 \times 10^6$	25	$1.3 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	98
21	2	$1.1 \times 10^7$	30	$1.5 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8$	93
28	1	$4.1 \times 10^6$	35	$1.8 \times 10^8$	$1.8 \times 10^8$	98



<그림 3-2-77> 바실러스균 영양세포수와 내생포자수의 배양시간별 변화

## (2) 최적 포자화 기법의 확립

### (가) 끓임과 열처리의 포자화 효율 비교

포자화 배지에서 4일 동안 배양된 바실러스균 배양액을 끓기는 것과 끓긴 후 열처리를 5일 동안 매일 반복하면서 나타나는 5일 동안의 영양세포수와 내생포자수를 <표 3-2-35>에 나타내었다. 이 표에서 보는 바와 같이 두 포자화 기법을 적용하였을 때 총바실러스균수(영양세포수와 내생포자수의 합)는 5일 동안 모두  $10^8$  cell/ml 수준으로서 서로 비슷하였지만 포자화율에 있어서 4일 동안 끓겼을 때는 69%인 반면 4일 동안 끓긴 후 열처리를 했을 때는 96%로서 끓겼을 때에 비해서 내생포자수가 30% 증가된 것으로 나타났다. 그러므로 바실러스균 3차 배양액을 4일 동안 포자화 배지에서 배양하고 이것을 4일 동안 매일 유기물을 제거해 주어 끓기고 이어 열처리를 해 주면 배양 8일 만에 영양세포의 95% 이상을 내생포자로 만들 수 있으며 내생포자수도  $5 \times 10^8$  cell/ml 이상을 유지할 수 있는 것으로 나타났다. 이런 포자화 효율과 비교하기 위하여 <표 3-2-34>의 자료에서 나타난 바와 같이 포자화 배지에서 20일 동안 계속 배양해야만 포자화율이 95%를 넘었지만 내생포자수는  $2 \times 10^8$  cell/ml을 넘지 못하였다.

<표 3-2-35> 바실러스균의 열처리와 끓김에 의한 포자화 효율

배양시간 (일)	끓김				끓겨서 열처리			
	영양세포수 (cell/ml)	내생포자수 (cell/ml)	총바실러스 균수 (cell/ml)	포자화율 (%)	영양세포수 (cell/ml)	내생포자수 (cell/ml)	총바실러스 균수 (cell/ml)	포자화율 (%)
0	$5.5 \times 10^8$	$4.0 \times 10^7$	$5.9 \times 10^8$	7	$5.4 \times 10^8$	$7.2 \times 10^7$	$6.2 \times 10^8$	12
1	$5.2 \times 10^8$	$4.5 \times 10^7$	$5.6 \times 10^8$	8	$5.1 \times 10^8$	$1.1 \times 10^8$	$6.2 \times 10^8$	18
2	$5.3 \times 10^8$	$8.7 \times 10^7$	$6.2 \times 10^8$	14	$4.9 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$	$6.4 \times 10^8$	25
3	$3.7 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$	$5.3 \times 10^8$	30	$3.1 \times 10^8$	$2.3 \times 10^8$	$5.4 \times 10^8$	43
4	$1.7 \times 10^8$	$3.8 \times 10^8$	$5.4 \times 10^8$	69	$1.9 \times 10^7$	$4.9 \times 10^8$	$5.1 \times 10^8$	96
5	$8.6 \times 10^7$	$4.9 \times 10^8$	$5.8 \times 10^8$	85	$7.7 \times 10^8$	$5.4 \times 10^8$	$5.5 \times 10^8$	99

유기물을 제거하여 세포를 끓기기 위한 원심분리의 효율을 알아보기 위하여 원심분리된 세포침전물과 상층수에 포함된 영양세포수와 내생포자수를 합한 총세균수를 계수한 결과 침전효율이 평균 95%로서 원심분리로 유기물 제거가 효과적으로 이루어지고 있으며 따라서 바실러스균이 끓고 있는 것으로 확인되었다(표 3-2-36).

<표 3-2-36> 원심분리에 의한 세포의 침전효율

배양시간(일)	세포침전물의 총세포수 (cell/field)	상층수의 총세포수 (cell/field)	총세포수 (cell/field)	침전효율(%)
1	1	11	12	90
2	1	13	14	95
3	1	19	20	94
4	2	40	42	96
5	2	48	49	97
6	1	44	45	97
7	1	57	57	99
9	1	27	28	96
평균				95

(나) 열처리 방법별 포자화 효율 비교

포자화 배지에서 4일 동안 배양된 바실러스균 배양액을 끓인 후 열처리하는 것이 단순히 끓기는 기법에 비하여 포자화 효율이 우수한 것으로 나타났으므로 이번에는 다양한 열처리 방법 즉 60℃ 10분, 70℃ 10분, 80℃ 10분, 80℃ 5분 동안 각각 열처리를 했을 때의 영양세포수와 내생포자수를 세고 포자화율을 산정하여 방법별 포자화 우수성을 판정하였다. <표 3-2-37>에서 보는 바와 같이 열처리를 하는 경우 하지 않는 경우의 포자화율 7%보다는 현저하게 포자화 효율이 증가되었으며, 특히 80℃에서 10분 열처리를 했을 때의 포자화율이 82%로서 다른 열처리 방법에 비하여 효율이 7~29% 이상 증가되었다. 동시에 내생포자수도  $4.9 \times 10^8$  cell/ml로서 가장 높은 값을 기록하였다. 이런 결과는 포자화를 위한 열처리는 80℃에서 10분 실시하는 것이 최선의 방법임을 보여주는 것이다.

<표 3-2-37> 열처리 방법별 바실러스균의 포자화 효율

열처리 방법	영양세포수 (cell/ml)	내생포자수 (cell/ml)	총바실러스균수 (cell/ml)	포자화율 (%)
열처리하지 않음	$5.5 \times 10^8$	$4.0 \times 10^7$	$5.9 \times 10^8$	7
60℃에서 10분	$2.7 \times 10^8$	$3.0 \times 10^8$	$5.7 \times 10^8$	53
70℃에서 10분	$1.6 \times 10^8$	$4.2 \times 10^8$	$5.7 \times 10^8$	73
80℃에서 10분	$1.1 \times 10^8$	$4.9 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	82
80℃에서 5분	$1.4 \times 10^8$	$4.2 \times 10^8$	$5.6 \times 10^8$	75

(다) 규산염 미네랄의 포자화 증진 효과

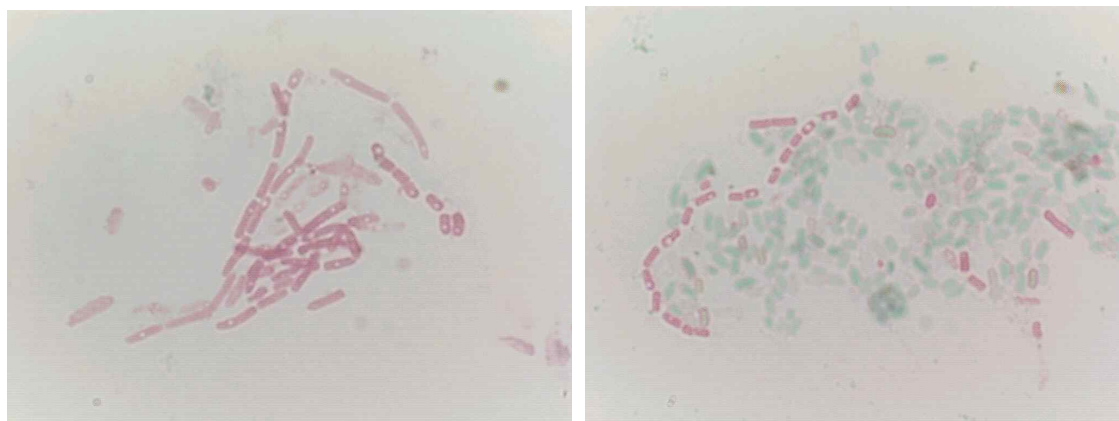
규산염( $\text{SiO}_2$ )이 바실러스 영양세포의 포자화를 촉진시키는 효과를 보인다는 보

고(Murakami 등, 1995)가 있어 바실러스 포자화 배지에 소량의 규산염을 첨가하여 4일 동안 배양하였을 때 포자화에 미치는 영향을 분석하였다.  $5 \times 10^{-5} \text{M}$  농도의  $\text{SiO}_2$ 를 첨가하였을 때의 포자화율이 82%로서 첨가하기 전의 7%에 비하여 약 12배 증가하였다(표 3-2-38). 이 포자화율은  $80^\circ\text{C}$  10분 열처리했을 때의 포자화율도 같은 효율이지만 형성된 내생포자수는 열처리 때 나타난 내생포자수의 83% 수준이었다.

<표 3-2-38> 규산염( $\text{SiO}_2$ ) 미네랄의 포자화 증진 효과

$\text{SiO}_2$ 유무	영양세포수 (cell/ml)	내생포자수 (cell/ml)	총바실러스균수 (cell/ml)	포자화율 (%)
$\text{SiO}_2$ 첨가 안함	$5.5 \times 10^8$	$4.0 \times 10^7$	$5.9 \times 10^8$	7
$\text{SiO}_2$ 첨가	$2.7 \times 10^8$	$3.0 \times 10^8$	$5.7 \times 10^8$	53

규산염을 첨가하지 않은 포자화 배지에서는 영양세포 내부의 한 쪽 끝에 작은 크기의 내생포자가 들어 있는 세포(그림 3-2-77A)가 많이 확인되는 반면 규산염을 첨가한 포자화 배지에서는 malachite green으로 염색된 완전한 형태의 녹색의 내생포자(그림 3-2-77B)가 현저하게 증가된 것으로 보아 포자화가 촉진된다는 사실을 확인할 수 있었다.



(A: 내부에 내생포자를 지닌 붉은색의 영양세포) (B: 완전한 형태의 독립적인 녹색의 내생포자)

<그림 3-2-76> 바실러스균(*B. thuringiensis*)의 영양 세포 내 내생포자 및 독립 내생포자(1600× 배율의 현미경 사진)

라. 바실러스균의 하수 최적처리조건

유기물 분해 능력과 동시에 질소와 인을 제거할 수 있는 고도처리 능력을 겸비



한 본 RABC 공정에서 분리한 12종의 세균(11종의 바실러스균, 1종의 에어로모나스균)은 pH 7, 35℃의 중온 환경, 그리고 공기가 있는 환경에서 배양하여 검출한 호중성, 중온성, 호기성 세균들이다. 이러한 세균들의 성장가능 환경범위를 설정하는 것과 동시에 생장이 불가능한 환경조건의 범위를 아는 것이 미생물을 이용하여 운전하는 생물학적 하수처리공정에서는 매우 중요하다. 더구나 미생물의 성장범위의 환경조건을 벗어날 때도 종종 있기 때문에 이런 열악한 환경 조건에서의 성장 여부를 확인하는 것 또한 필요한 일이다. 이런 목적을 달성하기 위하여 산성 및 알칼리성 pH, 저온, 그리고 혐기적 환경에서 1주일 동안 배양하면서 성장 여부를 관찰하였으며 그 결과는 각각 <부록>에 상세히 수록하였다.

#### (1) 산성 환경에서 성장하는 내산성 균주

pH 4.5~5.5 범위의 산성 환경에서 성장 가능한 균주는 바실러스균 4종이었으며 특히 가장 낮은 pH 4.5에서도 미미한 생장이나마 보인 것은 *B. megaterium*인 Ni12 1종뿐이었다. pH 5에서는 Ni12외에 *Bacillus* sp. TKSP24인 Ni32의 2종이 생장하였고, pH 5.5에서는 추가로 *B. vallismortis*인 Ni26과 *B. amyloliquefaciens*인 Ni8 등 모두 4종이 생장할 수 있었다.

#### (2) 알칼리성 환경에서 성장하는 내알칼리성 균주

실험대상 균주 14종이 모두 pH 8.5~9.5의 알칼리성 환경에서 성장 가능함을 보여 주었다. 특히 pH 9.5로 비교적 높은 알칼리성 조건에서 잘 자라는 균주는 Ni8, Ni26, Ni30, Ni32 등이었다. 따라서 앞에서 확인된 4종의 내산성 균주인 Ni12는 pH 4.5에서 9.5까지의 아주 넓은 범위의 pH 조건에서도 생장이 가능한 균주로서 pH 변화가 심한 폐수처리에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 보인다.

#### (3) 저온에서 성장하는 균주

10℃의 낮은 온도 조건에서 성장할 수 있는 균주는 *B. vallismortis*인 Ni26과 바실러스가 아닌 세균인 *Aeromonas hydrophila*인 Ni24 두 종이었다. 그리고 Ni2를 제외한 나머지 11개 균주는 15℃에서 모두 콜로니를 형성하는 능력을 가지고 있었으며, 20℃에서는 모든 실험균주가 성장 가능하였다. 이런 저온내성균주들의 존재는 하수의 수온이 10~15℃를 유지하는 겨울철에도 하수처리가 가능함을

보여주는 것이다.

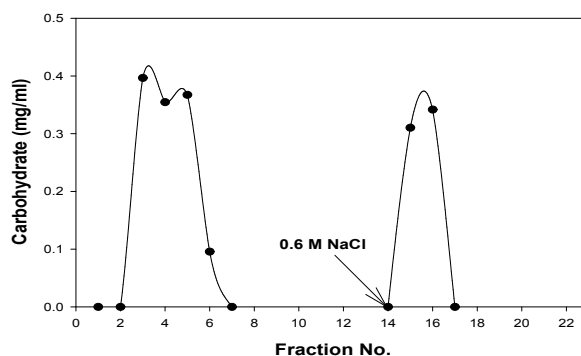
#### (4) 혐기적 조건에서도 성장하는 균주

실험대상 균주들이 모두 호기적 환경에서 분리 배양된 호기성 세균이다. 이들을 대상으로 산소가 없는 혐기적 환경에서의 성장 여부를 확인하는 것은 통성 혐기성 세균의 존재를 찾기 위함이다. 대체로 바실러스균들은 호기성 세균이지만 본 RABC 공정에서 검출된 바실러스는 대부분이 무산소 조건이 되면 질산염을 환원하여 에너지를 생성하는 혐기성 호흡으로 살아갈 수도 있는 Group II 바실러스균에 속하는 것으로 앞에서 이미 살펴보았다. 따라서 질산염도 거의 존재하지 않는 혐기적 환경에서는 바실러스균들은 전혀 콜로니를 형성하지 못하는 것으로 나타났다. 다만 비바실러스균인 에어로모나스 종인 Ni24만 배양 3일 후부터 미미한 콜로니를 형성하기 시작하였으며 7일 동안 콜로니 크기는 거의 변화가 없었다.

#### 마. 생리활성물질

##### (1) 세포외 다당류의 추출 및 정제

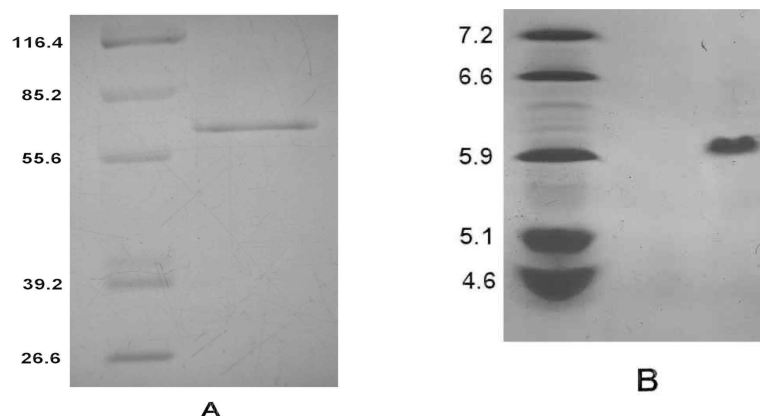
#175 균주로부터 분리하여 보관중인 다당류 시료를 취하여 Sephadex G-50 컬럼을 사용하여 무기염류 등을 제거하고 DEAE Sepharose CL-6B 음이온교환수지에 적용시켰다. 증류수로 이온교환수지에 붙지 않는 neutral glucan을 용출시키고, phospho glucan은 0.6M의 NaCl을 가하여 용출시켰다(그림 3-2-78).



<그림 3-2-78> #175 균주에서 추출한 글루칸을 DEAE Sepharose CL-6B 컬럼에서 분획한 프로파일

(2) 단백질 분해효소의 분리 정제 및 특성

*A. hydrophila* Ni39에서 최종적으로 순수분리한 단백질 분해효소의 순도는 배양액에 비해 16.7배 증가하였고 수율은 약 20%였다. Sephacryl S-200 HR 컬럼을 사용하여 측정된 효소의 분자량은 약 102 kDa이었으며, SDS-PAGE를 통해 측정된 값은 65.9 kDa 이었다(그림 3-2-79A). 이는 다른 *A. hydrophila*인 ATCC 7966과 NRC 505와 유사하게 본 효소가 2개의 소단위체로 구성된 이합체 단백질을 나타낸다. 그러나 분자량에서는 ATCC 7966이 145 kDa, NRC 505가 54 kDa으로(Leung와 Stevenson, 1988) 본 효소와 다를 수 있었다. 본 효소의 등전점은 6.0(그림 3-2-79B)으로서 다른 *A. hydrophila*와는 매우 다르게 나타났다. *A. hydrophila* B<sub>51</sub>은 등전점이 6.5-6.8, 7.0, 8.3-8.5인 3개의 단백질 분해효소를 분리하는 것으로 보고된 바 있다(Neito와 Ellis, 1986). 따라서 본 균주가 생산하는 단백질 분해효소는 아미노산의 조성 또는 서열에서 다른 균주와 차이가 있음을 알 수 있었다. 효소활성을 위한 최적온도 및 pH는 60℃와 pH 9.0이었으며, 60℃에서 30분간 방치하였을 경우에도 90%의 활성을 유지하는 것으로 보아 열-안정성 단백질 분해효소임을 알 수 있었다. 여러 가지 단백질 분해효소 저해제가 본 효소에 미치는 영향을 조사한 결과, PMSF에 의해 88% 정도 저해되는 것으로 나타나 본 효소가 serine protease임을 알 수 있었다(표 3-2-39). 이와 같은 결과를 종합해볼 때 *A. hydrophila* Ni39에서 생산되는 단백질 분해효소는 저해제의 종류, 열에 대한 안정성, 분자량 및 등전점 등에서 기존에 보고된 종류와는 매우 다른 효소임을 알 수 있었다.



<그림 3-2-79> *A. hydrophila* Ni39 균주의 배양 상층액에서 정제한 단백질 분해효소의 SDS-PAGE 사진(A) 및 등전점 사진(B).

<표 3-2-39> 단백질 분해효소 저해제가 *A. hydrophila* Ni39 균주의 배양 상층액에서 정제한 단백질 분해효소 활성화에 미치는 영향

저해제 종류	단백질 분해효소 활성화도(%)
처리하지 않음	100
E64 (2.5 mM)	99.1
EDTA (10 mM)	95.2
Pepstatin (2.5 µg/ml)	103
1,10-Phenanthroline (2.5 mM)	95.2
PMSF (2.5 mM)	12.1

## 7. RABC 공정의 경제성 평가

RABC SYSTEM, A<sub>2</sub>/O 공법, 신 Bardenpho 공법의 경제성 비교를 <표 3-2-40>과 같이 도시하수 15,000m<sup>3</sup>/일 처리할 경우를 가정하여 건설비, 유지관리비, 면적 항목별로 개략적으로 산정 비교 하였다.

<표 3-2-40> 고도처리공법의 경제성 비교

구분	RABC SYSTEM	A <sub>2</sub> /O 공법	신 Bardenpho 공법
초기건설비	52,016	56,192	64,247
유지관리비 (백만원/년)	1,997	2,762	2,881
설치면적(m <sup>2</sup> )	26,734	28,509	38,259
활성슬러지법에 적용성	쉽다	어렵다	어렵다

<표 3-2-41>고도처리 공법별 건설비 산정결과

(단위 : 백만원)

단위공정	RABC SYSTEM		A <sub>2</sub> /O 공법		신 Bardenpho 공법	
	토목공사	기계/ 전기공사	토목공사	기계/ 전기공사	토목공사	기계/ 전기공사
1. 유입시설	267	-	267	-	267	-
2. 침사지	1,377	2,838	1,377	2,838	1,377	2,838
3. 최초침전지 또는 RBC 장치	-	1,800	2,301	2,505	2,301	2,505
4. 포기조	5,350	3,180	7,654	6,399	13,560	8,895
5. 최종침전지	2,688	2,188	2,688	2,188	2,688	2,188

6. 약품주입장치	-	60	-	143	-	143
7. 염소소독조	-	-	776	765	776	765
8. 펌프장	624	1,145	624	1,145	624	1,145
9. 슬러지농축조	180	330	242	440	231	422
10. 슬러지소화조	-	-	3,137	1,151	2,958	1,086
11. 가스저장시설	-	-	266	126	251	120
12. 슬러지순환펌프	225	525	564	1,760	531	1,661
13. 가온시설	-	-	-	438	-	413
14. 슬러지탈수기	615	2,235	1,020	3,374	1,020	3,374
15. 처리수여과시설	1,628	350	1,628	350	1,628	350
16. 처리수방류시설	277	-	277	128	277	128

단위공정	RABC SYSTEM		A <sub>2</sub> /O 공법		신 Bardenpho 공법	
	토목공사	기계/ 전기공사	토목공사	기계/ 전기공사	토목공사	기계/ 전기공사
17. 용수공급시설	277	390	277	390	277	390
18. 발전시설	375	786	375	1,572	375	1,572
19. 변전시설	268	555	268	834	268	834
20. 전기계장/ 제어시설	228	1,239	229	1,860	229	1,965
21. 관리동	1,281	1,075	1,281	1,075	1,281	1,075
22. 기타		1,460	-	1,460	-	1,460
소 계	15,660	36,356	25,251	30,941	30,918	33,329
총 건설비		52,016		56,192		64,247

<표 3-2-42> 고도처리 공법별 유지관리비 산정결과

(단위 : 백만원/년)

단위공정	RABC SYSTEM	A <sub>2</sub> /O 공법	신 Bardenpho 공법
동력비			
1. 유입시설	470	470	470
2. 최초침전지 또는 RBC 장치	40	8	8
3. 포기조	610	1,332	1,451
4. 최종침전지	50	50	50
5. 약품주입장치	5	-	-
6. 슬러지농축조	4	4	4
7. 슬러지소화조	-	4	4
8. 탈수시설	90	110	110

9. 처리수여과시설	84	84	84
소계	1,353	2,062	2,181
약품비			
1. 고분자응집제	150	360	360
2. 소석회	-	156	156
3. 미생물활성제	310	-	-
4. 여재	184	184	184
소계	644	700	700
합 계	1,997	2,762	2,881

<표 4-2-43> 고도처리 공법별 면적 산정결과

(단위 : m<sup>2</sup>)

단위공정	RABC SYSTEM	A <sub>2</sub> /O 공법	신 Bardenpho 공법
1. 유입시설	450	450	450
2. 최초침전지 또는 RBC 장치	-	3,860	3,860
3. 포기시설	12,500	9,360	18,720
4. 최종침전시설	6,480	6,480	6,480
5. 처리수여과시설	4,000	4,000	4,000
6. 소독시설	-	65	65
7. 슬러지농축설비	260	260	260
8. 슬러지탈수시설	860	1,100	1,110
9. 방류설비	150	260	260
10. 탈취설비	-	240	350
11. 약품실	139	139	139
12. 용수공급설비	110	110	110
13. 변전소	350	350	410
14. 전기동	180	180	230
15. 송풍기동	250	650	810
16. 관리동	950	950	950
17. 기타	55	55	55
계	26,734	28,509	38,259

위에서 언급한 바와 같이 건설비, 유지관리비, 면적 항목으로 비교 분석한 결과 RABC SYSTEM이 타 고도처리공법에 비해 경제성이 우수한 결과를 얻을 수 있었다.

### 제3절 연구결과 요약

하수처리장 효율향상 및 고도처리기술개발을 위하여 호기성 혹은 통성혐기성 세균인 바실러스균에 대한 미생물학적 특성을 토대로 다단의 망상형 회전담체에 바실러스균을 고밀도로 우점화시키는 기술을 발전시켜, RABC (Rotating Activated Bacillus Contactor) 신공정을 개발하고, 고양시 난지하수처리장내에 설치한 파일럿 플랜트 RABC 공정과 평택시 통북하수처리장내에 설치한 실증 플랜트 RABC 공정을 중심으로 도시하수처리에 대한 적용성을 1차년도 및 2차년도에 걸쳐 분석하였다. 1차년도의 연구에서 파일럿 플랜트 RABC 공정을 운전한 결과 평균 BOD<sub>5</sub> 6.60 mg/ℓ, T-N 8.75 mg/ℓ, T-P 0.82 mg/ℓ의 수질을 얻을 수 있었다. 이는 1차년도 연구의 잠정목표수질(BOD 10mg/ℓ, T-N 10mg/ℓ, T-P 1.0mg/ℓ 이하)을 충분히 만족시키는 수준으로서 1차년도의 목표는 성공적으로 달성할 수 있었다. 다만, 차세대 핵심환경기술 사업에서 제시한 하수고도처리 목표수질인 최종목표수질 (BOD 5mg/ℓ, T-N 5mg/ℓ, T-P 0.5mg/ℓ 이하) 보다는 전 항목에서 초과하였기에, 2차년도의 연구에서는 RABC단을 축소시키고 생물반응조의 DO 공급 장치를 자동제어로 전환시키는 등의 RABC system 개선을 통하여 최종 목표수질을 달성하고자 하였다. 2차년도의 연구에서 실증 플랜트 RABC 공정을 운전한 결과 BOD<sub>5</sub> 8.40 mg/ℓ, T-N 15.20 mg/ℓ, T-P 1.40 mg/ℓ의 수질을 얻을 수 있었다. 이 수질결과는 여전히 최종 수질목표치를 초과하는 것으로서, 본 RABC SYSTEM만으로는 안정적으로 목표수질에 달성하기에 무리가 있다고 판단되었기에, 보다 안정되고 제거율이 높은 초고도처리를 위하여 RABC 공정의 후단에 사여과 장치를 설치하여 운전하였다. 운전결과 사여과시설을 설치하기 전과 비교하여 BOD<sub>5</sub>, T-N, T-P 농도가 각각 23 %, 21%, 36%로 감소하는 효과를 얻을 수는 있었으나 여전히 최종목표수질을 안정적으로 얻는 데에는 다소 어려움이 따른다는 사실을 확인할 수 있었다. 그러나 2차년도의 연구결과에서 얻어진 수질은 현재 특별대책지역내의 하수처리 사업소의 방류수 수질기준을 안정적으로 만족하는 것으로 RABC 공정은 하수고도처리에 관

한 적용성은 우수한 것으로 입증됐다.

RABC 하수고도처리 공정의 설계인자를 파악하기 위하여 파일럿 플랜트 RABC 공정을 대상으로 하여 기초연구를 수행한 결과 다음과 같은 연구결과를 얻을 수 있었다. RABC 고정 전단의 원판체의 면적과, 제거된 BOD량을 기준으로 한 RABC 장치의 설계부하는 초단을 기준으로  $1.23 \text{ kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ , 4단 평균  $0.31 \text{ kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ 의 값을 얻을 수 있었다. 이는 일반적인 RBC공정보다 평균적으로 무려 30배가 넘는 설계 부하량 값으로서 일반적인 고도처리공정보다 매우 처리능력이 뛰어난 공정임을 알 수 있었다. MLSS의 증감을 통하여 간접 추정된 BOD 제거량에 대한 슬러지 발생률은 약 18%로서 일반적인 고도처리공정보다 매우 낮게 나타났다. RABC 공정에서 발생하는 슬러지는 침강성이 매우 뛰어난 공법임을 슬러지 침강실험을 통하여 확인할 수 있었다. RABC 공정내의 질소제거는 일반적인 질산화 탈질과정이 아닌 원수가 RABC 공정 전단부의 원판체를 경유하며 대부분이  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 의 형태로 제거되는 메커니즘임을 알 수 있었다.

RABC 공정에 의한 대장균군 제거효과를 분석한 결과, 바실러스균을 이용한 RABC 공정에서의 세균 및 대장균군의 제거는 주로 침전지에서 침전을 통하여 발생하고 있음을 알 수 있었고 바실러스균의 항균작용으로 인한 세균 및 대장균군 제거효과는 크게 기대할 수 없는 것으로 판단되었다. 그렇지만 RABC 공정은 상수원의 수질에 영향을 미치는 특정지역을 제외한 곳에서는 소독공정 없이도 총대장균군에 대한 방류수 수질기준 ( $3,000 \text{ CFU}/\text{ml}$ )을 만족할 수 있었다. RABC 공정에서의 동역학 상수를 회분식 실험을 통하여 산출한 결과, 반속도 상수 ( $K_s$ ), 내생호흡계수 ( $k_d$ ), 최대미생물 생산계수 ( $Y$ ), 최대 비증식 속도계수 ( $\mu_m$ )가 각각  $60 \text{ (mg}/\ell)$ ,  $40 \text{ (d}^{-1})$ ,  $0.6 \text{ (mg}/\text{mg})$ ,  $1.9 \text{ (d}^{-1})$ 의 값을 얻을 수 있었다.

한편, 바실러스균에 대한 미생물학적 특성에 관한 연구를 수행하여 다음과 같은 미생물학적인 기초연구결과를 얻을 수 있었다. RABC 공정의 생물막에는  $10^8 \text{ CFU}/\text{ml}$  정도인 호기성 배양가능세균의 6.5% 정도에 해당하는 약  $10^7 \text{ CFU}/\text{ml}$ 의 바실러스균이 서식하고 있으며 이것은 기존 활성슬러지 공정이나 RBC 공정 생물막내 바실러스균 비율의 8~16배에 달하는 것으로서 RABC 생물막은 바실러스균으로 우점화되어 있었다. RABC 공정의 생물막에 서식하고 있는 호기성 종속영양세균을 배양하여 그 종류와 특징을 확인한 결과 생물막 형성에 중요한 사상균인 악티노세균(Actinobacteria), 다양한 물질분해능을 가진 감마프로테오세균



(*gammaproteobacteria*), 그리고 물질 분해, 악취 제거, 많은 종류의 생리활성물질을 다량 분비하는 Group II 바실러스균(*bacilli*)이 가장 많이 분포하고 있었다. 또한 유전자(DNA) 분석법으로 생물막 미생물을 배양하지 않고 생물막에 존재하는 유전자를 직접 검출하여 유전자의 염기서열로 종류를 확인한 결과 혐기성 세균(클로스트리디움균, 박테로이드균)의 비율이 절반을 넘는 58%에 달하였다. 이것은 생물막 환경이 호기성, 통성 혐기성 및 혐기성 미생물 등 다양한 종류의 미생물이 공존하는 종 다양성이 매우 큰 생태계로서 그만큼 다양한 종류의 물질분해가 일어날 수 있음을 말해주고 있다. 이 밖에도 산성이나 알칼리성 환경, 저온 환경, 혐기성 환경, 염이 존재하는 환경에서도 내성을 가진 종류도 확인되었다. RABC 공정의 생물막을 구성하는 미생물에는 유기물 분해효소의 분비는 물론 인산염 저장, 질화 및 탈질, 난분해성물질(농약, 부식산, 레진) 분해, 휘발성 악취유발물질(메탄, 휘발성 기체) 분해, 독성물질(과산화염소)이나 중금속(우라늄) 축적, 황 축적과 같은 고도처리능력을 가지고 있는 세균집단이 많이 포함되어 있었다. 또한 분리 배양한 12종의 바실러스균의 암모니아를 18~68%, 무기인산염을 47~95% 제거할 수 있다는 사실이 실험으로 확인되었다. 고도처리능력이 탁월한 바실러스균을 종균제로 사용하기 위한 최적 포자화 기법은 바실러스 액체농화배지액을 규산염이 첨가된 포자화 배지에서 4일 동안 배양하고 이 배양액 세포를 4일 동안 끓여서 80℃에서 10분 열처리를 하는 것으로 나타났다. 이 기법을 사용하면 영양세포의 95% 이상을 포자화시킬 수 있으며 얻어지는 내생포자수는  $5 \times 10^8$  cell/ml 수준이었다. RABC 공정에서 4종의 단백질 분해세균을 분리하여 동정하였는데 이 가운데 3종이 바실러스균, 1종은 비바실러스균인 에어로모나스균이었다. 단백질 분해효소의 최적 온도 및 pH는 40~70℃, pH 8.0~8.5였으며, 4종 모두 세린계열 단백질 분해효소(*serine protease*)를 지니고 있는 것으로 나타났다. 이외에도 3종에게는 금속계열 단백질 분해효소(*metalloprotease*)도 가진 것으로 추정되었으며, 4종의 균주가 모두 2개 이상의 단백질 분해효소를 지니고 있는 것으로 나타났다. 한편, 에어로모나스균에서 분리되는 단백질 분해효소를 순수분리한 결과 등전점 6.0, 원형 효소 분자량 102 kDa, 변성 효소 분자량 65.9 kDa로서 이합체 단백질 효소였다. 이 효소를 60℃에서 30분간 처리할 때 90%의 활성 유지와 PMSF에 의해 88% 활성 저해가 일어나는 것으로 보아 열안정성 세린계열 단백질 분해효소인 것을 알 수 있었다.

## 제4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

### 제1절 연구개발목표 달성도

#### 1. 1차년도 연구개발목표

	주요 사업내용 및 범위	제품의 목표, 사양, 성능 등
1 차 년 도	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Bench-scale RABC 운전</li> <li>· 바실러스균의 동정 및 배양</li> <li>· 다단 RABC 설계인자 도출</li> <li>· RABC 바실러스균 우점화조건, 기전(Mechanism)규명, N, P 제거에 대한 Mass Balance규명</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Ø550 망상 회전체 장치세트 설치</li> <li>· 인공하수 및 실제하수 처리 실험</li> <li>· 처리수질 목표치 : BOD10mg/ℓ 이하 T-N10mg/ℓ 이하 T-P1.0mg/ℓ 이하</li> </ul>

1차년도 잠정목표수질(BOD 10mg/ℓ, T-N 10mg/ℓ, T-P 1.0mg/ℓ 이하)을 성공적으로 달성하였음.

#### 2. 2차년도 연구개발목표

	주요 사업내용 및 범위	제품의 목표, 사양, 성능 등
2 차 년 도	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Full-scale 다단 RABC 운전</li> <li>· 바실러스균의 하수처리 특성 다단 RABC 하수고도처리 장치 성능제고 및 경제성 평가</li> <li>· 대규모 하수처리장에 적용하는 Full-scale RABC 장치 운전결과 정리 및 운전인자 확립</li> <li>· 처리 공법 기전(Mechanism)규명 N, P 제거에 대한 Mass Balance 규명</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Ø2000 망상 회전체 장치 설치</li> <li>· 실제하수 고도처리실험(Full-scale)</li> <li>· 처리수질 목표치 : BOD5mg/ℓ 이하 T-N5mg/ℓ 이하 T-P0.5mg/ℓ 이하</li> </ul>

2차년도 목표수질(BOD 5mg/ℓ, T-N 5mg/ℓ, T-P 0.5mg/ℓ 이하)에 대해서는 실증 Plant(300m³/d) 운전결과 BOD 8.4mg/ℓ, T-N 15.2mg/ℓ, T-P 1.4mg/ℓ 평균 처리수질을 도출되어 목표수질에 다소 미흡하였다. 목표수질을 달성하기 위해서는

침전지 후단에 다소의 공정을 추가하면 최종 목표수질을 달성할 수 있다고 판단되며 현재의 하수처리장의 방류수 수질기준 특히 T-N 20mg/ℓ, T-P 2mg/ℓ에 도달되어 하수고도처리공법으로 적합한 공법임을 알 수 있었다.

## 제2절 대외기여도

### 1. 환경적 효과

연구결과 RABC SYSTEM은 외국에서 도입된 기술보다 안정된 처리수질 및 경제성을 입증하고 있어 본 공법의 개발은 국내의 전반적인 환경관련 기술의 향상으로 이어져 환경시장의 저변확대와 부수적으로 본 기술과 관련된 기계, 전기, 계장 및 운전기술 등의 분야도 동시에 발전이 있으리라 판단된다. 또한 양질의 수자원을 확보함으로써 국민생활의 개선과 모든 분야에 있어서 경쟁력을 확보할 수 있으리라 믿는다.

### 2. 경제적 파급효과

기술도입에만 의존해 오던 고도처리공법을 국내 기술로서 대체 된다면 기술료 절감뿐만 아니라 기술우위가 인정되면 기술 수출에 의한 외화를 벌어들일 수 있다. 또한, 개발공법의 적용으로 UR 및 GR에 대한 기술 경쟁력 제고로 인한 국내 시장성 확보 및 국내 경쟁력 향상에 기여하게 될 것이며, 과량의 질소 및 인이 자연 수계로 방류됨에 따른 호소 및 하천의 부영양화와 해안의 적조현상을 방지함으로써 파괴된 생태계를 복구하는데 기여를 하고 전국토의 수질환경이 개선되며 부수적으로 농업, 수산업 등 1차 산업은 물론 2, 3차 산업, 서비스 및 관광 분야에 이르기까지 전반적으로 국가발전의 원동력이 될 것이다.

## 제5장 연구개발결과의 활용계획

본 연구개발결과를 토대로 현재 일본에서 수입하는 망상형 회전식 바실러스 접촉장치(RABC)를 국산화하여 기술 및 가격 경쟁을 향상하여 <표 5-1>에서 나타낸 바 국내에서는 고도처리시설을 도입하는 하수처리장 또는 폐수처리시설에 참여기업인 세일기술(주)과 산학합동으로 적극적으로 RABC SYSTEM을 우수성 홍보 및 영업활동으로 활용을 극대화하며, 해외 특히 낙후되어 있는 중국의 환경시장에 국내 고도처리 기술인 RABC SYSTEM의 우수성을 적극적인 홍보(세미나, 학술발표) 및 Marketing을 실시하여 기술 수출 및 플랜트 분야에 참여기업인 세일기술(주)과 중국 현지 기업과 공동으로 진출을 할 예정이고, 바실러스균의 특성을 연구하여 추가 기술 개발하여 생명공학기술 분야인 항생제 및 탈취제 개발에 활용될 수 있을 것이다.

<표 5-1-1> RABC SYSTEM 사업화 계획

구분	사업화 연도		
	( 2003 )년	( 2005 )년	( 2007 )년
환경기술 보급	제품 실용화	각 하수처리장에 적극 보급	해외(중국 및 동남아) 시장 적극 진출
추가 기술 개발	-	생명공학 분야에 접목 (항생제 및 탈취제)	제품 실용화 및 시판

## 제6장 참고문헌

김호열 등, ‘바실러스균을 이용한 돈사폐수의 생물학적 처리에 관한 연구’, 대한환경 공학회지, 1997

민봉희, 박성주, 박용근, 백형석, 이건형, 이호용, 한홍의. 미생물과학, p. 165-167. 2001.

성기문 등, “바실러스균을 이용한 돈사폐수의 생물학적 처리에 관한 연구”

안태석, 홍선희, 김옥선, 유재준, 전선옥, 최승익. B3 공법을 사용하는 하수종말처리장에서 *Bacillus* 속 세균의 변화. 미생물학회지 37(3), 209-213. 2001.

이관복. 무방류식 자연발효화장실에서의 혐기성 세균의 다양성. 대전대학교대학원 미생물학과 미생물학전공 석사학위논문, p. 6-11. 2003.

이운원, 성기문, ‘특수섬유를 사용한 망상형 회전식 미생물 접촉장치를 이용한 하 · 폐수 고도처리공법’, 한국물환경학회 · 대한상하수도학회 공동 춘계학술발표회, 2002

(주)한미, ‘특수 Bio Reactor를 이용하여 하 · 폐수 처리공정에서 악취제거 및 고도처리를 하는 공법(HBR-Ⅱ 공법), 2000

환경부 / 환경관리공단. 신기술 요약집, 2003

Amann, R., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. Phylogenetic and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev. 59, 143-169. 1995.

Atlas, R.M. Handbook of microbiological media, 2nd ed. (edited by L.C. Parks). CRC Press. Boca Raton. 1997.

Beaudoin, D. L., J. D. Bryers, A. B. Cunningham, and S. W. Peretti, 'Mobilization of broad host range plasmid from *pseudomonas putida* to established biofilm of *bacillus azotoformans*. 1. experiments' , *Biotechnology and Bioengineering*, Volume 57, Issue 3, 1998.

Beaudoin, D. L., J. D. Bryers, A. B. Cunningham, and S. W. Peretti, 'Mobilization of broad host range plasmid from *pseudomonas putida* to established biofilm of *bacillus azotoformans*. 2. modeling', *Biotechnology and Bioengineering*, Volume 57, Issue 3, 1998.

Bitton, G. *Wastewater microbiology*, 2nd ed., p. 181–206. Wiley-Liss. 1999.

Bradford, M.A. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254. 1976.

Cho, J.-C. and S.-J. Kim. Increase in bacterial community diversity in subsurface aquifers receiving livestock wastewater input. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 956–965. 2000.

Clark, G. (ed.) *Staining procedures*, 4th ed. p. 390. Biological Stain Commission. Williams & Wilkins. Baltimore. 1981.

Ferrari, E., A.S. Jarnagin, and B.F. Schmidt. Commercial production of extracellular enzymes, *In: Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria. ed. by A.L. Sonenshein, J.A. Hoch, and R. Losick, p. 917–937. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1993.

Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G.B. Phillips. (eds.) *Manual of methods for general microbiology*, p.

114-115. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1981.

Gupta, A. B., 'Thiosphaera Pantotropa: a Sulphur Bacterium Capable of Simultaneous Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification', Enzyme and Microbial Technology, 1997

Gupta, A. B., and S. K. Gupta, 'Simultaneous Carbon and Nitrogen Removal in a Mixed Culture Aerobic RBC Biofilm', Wat. Res. Vol 33, No.2, pp 555-561, 1999.

Hanaki, K., Wantawin, C. and Ohgaki, S., 'Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor', Wat. Res., Vol. 24, 1990

Hellinga, C., Schellen, A. A. J. C., Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J., 'The SHARON process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich wastewater', wat. sci. Tech. Vol. 37, 1998

Helmer, C., et al, 'Nitrogen Loss In a Nitrifying Biofilm System', Wat. Sci. Tech. Vol 39, 1999

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (eds.). Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins. Baltimore. 1994.

Joung, P.-M., K.-S. Shin, J.-S. Lim, I.S. Lee, and S.J. Park. Diversity of acid-tolerant epiphytic bacterial communities on plant leaves in the industrial area and the natural forest area based on 16S rDNA. Kor. J. Microbiol. 37(4), 265-272. 2001.

Krieg, N.R. and J.G. Holt. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1. Williams & Wilkins. Baltimore. 1984.

Lane, D.J. 16S/23S rRNA sequencing, *In*: Nucleic acid techniques in bacterial systematics, ed. by E. Stackebrandt and M. Goodfellow, p. 115–117. John Wiley and Sons. New York, N.Y. 1991.

Leung, Y.K. and R.M. Stevenson. Characteristics and distribution of extracellular proteases from *Aeromonas hydrophila*. J. Gen. Microbiol. 134, 151–160. 1988.

Mizuki, E., M. Maeda, R. Tanaka, D.-W. Lee, M. Hara, T. Akao, S. Yamashita, H.-S. Kim, T. Ichimatsu, and M. Ohba. *Bacillus thuringiensis*: A common member of microflora in activated sludges of a sewage treatment plant. Current Microbiol. 42, 422–425. 2001.

Murakami, K., Y. Doi, M. Aoki, and R. Iriye. Dominant growth of *Bacillus* spp. in the aerobic night soil digestion tanks and their biochemical characteristics. 日本水環境學會誌 18(2), 97–108. 1995.

National Center for Biotechnology Information(NCBI). US National Library of Medicine. The NCBI Taxonomy Homepage (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>). 2003.

Nieto, T.P. and E. Ellis. Characterization of extracellular metallo- and serine-protease of *Aeromonas hydrophila* strain B<sub>51</sub>. J. Gen. Microbiol. 132, 1975–1979. 1986.

Ogram, A. Isolation of nucleic acids from environmental samples, *In*: Techniques in microbial ecology, ed. by R.S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey, and G. Saylor, p. 273–288. Oxford University Press, Inc. New York. 1998.



Priest, F.G. Systematics and ecology of *Bacillus*, *In: Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria, ed. by A.L. Sonenshein, J.A. Hoch, and R. Losick, p. 3-16, American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1993.

Sarath, G., R.S.D.L. Motte, and F.W. Wagner. Protease assay methods, *In* R.J. Beynon and J.S. Bond (eds.), *Proteolytic enzymes: A practical approach*, p. 25-55. IRL Press, Oxford, NewYork, Tokyo. 1989.

Siegrist, H., S. Reithaar G. Koch and P. Lais, 'Nitrogen Loss In a Nitrifying Rotating Contactor Treating Ammonium-Rich Wastewater Without Organic Carbon', *Wat. Sci. Tech.* Vol 38, 1998

Smibert, R.M. and N.R. Krieg. Phenotypic characterization, *In: Methods for general and molecular bacteriology*, ed. by P. Gerhardt, R.G.E Murray, W.A. Wood, and N.R. Krieg, p. 607-654. American Society for Microbiology. Washington, DC. 1994.

Sneath, P.H., N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 2. Williams & Wilkins. Baltimore. 1986.

Staley, J.T., M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 3. Williams & Wilkins. Baltimore. 1989.

Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Stuper, A. Balows, H.G. Schlegel (eds.). *The prokaryotes*, vol. I and II. Springer-Verlag. Berlin. 1981.

van Dongen, L.G.J.M., M.S.M. Jetten, M.C.M. van Loosdrecht, 'The Combined Sharon/Anammox Process', IWA publishing, 2001

van Dongen, U., M.S.M. Jetten, M.C.M. van Loosdrecht, 'The Sharon-Anammox

Process For Treatment Of Ammonium Rich Wastewater', Wat. Sci. Tech. Vol 44, 2001

van Loosdrecht, M.C.M., and M.S.M. Jetten, 'Microbiological Conversions In Nitrogen Removal', wat. Sci. Tech. Vol 38, 1998

van Loosdrecht, M.C.M., et al, 'Improving the sustainability of nitrogen removal', Water21 December 2001 )

Williams, S.T., M.E. Sharpe, and J.G. Holt. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 4. Williams & Wilkins. Baltimore. 1989.

Zuber, P., M.M. Nakano, and M.A. Marahiel. Peptide antibiotics, *In: Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria, ed. by A.L. Sonenshein, J.A. Hoch, and R. Losick, p. 897-916, American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1993.

須藤隆一, "環境微生物 実験法", 講談社サイエンティフィク, p. 2, 1988.

村上弘毅, 李文生, 青木満 等, 好気性無臭し尿処理において優點化する *Bacillus* spp. の種同定, 日本水処理生物學會誌, 第32巻, 第2号, 105-110, 1996.

## 부 록

## <부록 1> 본 연구 결과의 논문 및 학회 발표자료

## <부록 2> 연구결과 자료

<부록 2-1> 난지 하수처리사업소에 설치한 파일럿 플랜트 수질자료

<부록 2-1-1>경과일수에 따른 BOD농도 변화

(단위 :mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	-	-	-	-	-	-	-
4	2002-02-28	-	-	-	-	-	-	9.0
9	2002-03-05	99.0	-	-	-	-	23.1	10.6
11	2003-03-07	112.5	-	-	-	-	24.3	11.0
15	2002-03-11	102.0	-	-	-	36.0	14.0	11.8
18	2002-03-14	122.0	-	-	-	26.0	16.0	13.0
22	2002-03-18	109.0	-	-	-	17.5	10.7	13.1
25	2002-03-21	99.0	-	-	-	16.0	11.0	13.0
29	2002-03-25	112.0	-	-	-	15.0	9.0	13.8
32	2002-03-28	132.0	-	-	-	9.0	6.0	14.1
37	2002-04-02	142.0	-	-	-	11.0	7.0	15.2
45	2002-04-10	115.0	-	-	-	21.0	12.0	15.3
47	2002-04-12	143.0	-	-	-	12.0	7.0	15.8
51	2002-04-16	112.0	-	-	-	11.0	8.0	15.7
55	2002-04-20	130.0	-	-	-	9.0	5.0	16.6
58	2002-04-23	132.0	14.0	12.0	8.0	9.0	4.0	18.8
61	2002-04-26	112.0	18.0	14.0	12.0	14.0	8.0	18.6
65	2002-04-30	66.0	14.0	12.0	8.0	10.0	8.0	15.4
68	2002-05-03	57.0	10.0	8.0	8.0	11.0	4.0	17.4
73	2002-05-08	75.0	12.0	8.0	8.0	6.0	4.0	18.1
75	2002-05-10	106.0	14.0	8.0	8.0	10.0	6.0	20.1

&lt;부록 2-1-2&gt;경과일수에 따른 CODcr농도 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	-	-	-	-	-	-	-
4	2002-02-28	-	-	-	-	-	-	9.0
9	2002-03-05	-	-	-	-	-	-	10.6
11	2003-03-07	-	-	-	-	-	-	11.0
15	2002-03-11	106.0	50.5	50.5	50.5	46.5	44.5	11.8
18	2002-03-14	142.0	39.5	39.5	34.5	30.0	29.5	13.0
22	2002-03-18	156.0	54.0	44.0	44.0	44.0	36.5	13.1
25	2002-03-21	106.0	24.5	22.0	21.5	21.0	19.0	13.0
29	2002-03-25	108.0	26.0	23.0	22.5	21.5	19.5	13.8
32	2002-03-28	140.0	29.0	28.5	25.5	21.5	13.0	14.1
37	2002-04-02	140.0	42.0	35.0	34.5	33.0	24.0	15.2
45	2002-04-10	108.0	57.0	55.0	51.0	48.0	32.0	15.3
47	2002-04-12	220.0	39.0	37.0	34.0	31.0	25.0	15.8
51	2002-04-16	162.0	39.4	36.0	34.5	30.0	26.0	15.7
55	2002-04-20	148.0	39.0	37.0	35.0	34.0	31.0	16.6
58	2002-04-23	212.0	43.0	35.0	32.0	30.0	23.0	18.8
61	2002-04-26	128.0	37.0	35.0	35.0	31.0	28.0	18.6
65	2002-04-30	54.0	28.0	26.5	25.5	25.0	21.0	15.4
68	2002-05-03	60.0	33.0	29.0	28.0	27.0	22.0	17.4
73	2002-05-08	86.0	35.5	32.5	30.0	28.0	22.0	18.1
75	2002-05-10	124.0	28.5	25.5	25.0	24.5	20.0	20.1
79	2002-05-14	172.0	32.0	24.5	23.5	23.0	20.5	-

&lt;부록 2-1-3&gt; 경과일수에 따른 SS농도의 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	-	-	-	-	-	12	-
4	2002-02-28	-	-	-	-	-	15	9.0
9	2002-03-05	-	-	-	-	-	18	10.6
11	2003-03-07	-	-	-	-	-	17	11.0
15	2002-03-11	-	-	-	-	-	5	11.8
18	2002-03-14	-	-	-	-	-	3	13.0
22	2002-03-18	-	-	-	-	-	2	13.1
25	2002-03-21	-	-	-	-	-	4	13.0
29	2002-03-25	-	-	-	-	-	7	13.8
32	2002-03-28	60	-	-	-	-	10	14.1
37	2002-04-02	79	-	-	-	-	8	15.2
45	2002-04-10	65	-	-	-	-	10	15.3
47	2002-04-12	61	-	-	-	-	9	15.8
51	2002-04-16	87	-	-	-	-	14	15.7
55	2002-04-20	59	-	-	-	-	9	16.6
58	2002-04-23	51	-	-	-	-	9	18.8
61	2002-04-26	52	-	-	-	-	11	18.6
65	2002-04-30	37	-	-	-	-	18	15.4
68	2002-05-03	34	-	-	-	-	3	17.4
73	2002-05-08	30	-	-	-	-	5	18.1
75	2002-05-10	54	-	-	-	-	2	20.1
79	2002-05-14	80	-	-	-	-	3	-

&lt;부록 2-1-4&gt;경과일수에 따른 TN농도의 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	11.81	8.06	6.00	9.75	3.19	2.06	-
4	2002-02-28	27.28	16.91	17.19	18.38	15.94	15.94	9.0
9	2002-03-05	22.35	21.30	19.80	19.65	17.85	16.65	10.6
11	2003-03-07	21.75	21.30	20.25	20.85	17.85	17.10	11.0
15	2002-03-11	19.56	20.16	16.77	18.63	15.63	18.03	11.8
18	2002-03-14	27.87	18.19	17.64	17.03	16.39	14.63	13.0
22	2002-03-18	24.06	15.17	13.39	12.84	12.32	9.21	13.1
25	2002-03-21	24.15	17.88	16.73	16.64	15.78	13.88	13.0
29	2002-03-25	21.79	15.08	14.59	14.59	12.29	9.23	13.8
32	2002-03-28	30.66	13.24	11.14	10.88	10.53	8.59	14.1
37	2002-04-02	22.13	14.34	11.93	12.23	10.45	6.79	15.2
45	2002-04-10	22.83	19.10	19.18	16.79	12.79	11.59	15.3
47	2002-04-12	24.38	14.59	11.30	12.22	14.91	12.93	15.8
51	2002-04-16	25.88	13.49	12.23	11.93	13.88	11.59	15.7
55	2002-04-20	18.05	11.94	12.82	12.93	13.37	8.52	16.6
58	2002-04-23	21.12	12.73	11.77	12.51	12.19	7.90	18.8
61	2002-04-26	18.02	11.42	11.12	10.52	10.68	7.52	18.6
65	2002-04-30	4.22	2.55	2.45	2.36	2.22	1.49	15.4
68	2002-05-03	9.84	6.04	6.00	5.97	4.98	4.53	17.4
73	2002-05-08	18.48	15.45	15.73	15.34	14.72	11.92	18.1
75	2002-05-10	29.13	21.80	18.65	17.94	16.41	10.88	20.1
79	2002-05-14	31.38	24.51	21.40	18.81	17.08	9.32	-

<부록 2-1-5>경과일수에 따른 NO<sub>2</sub>-N농도의 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	0.42	0.20	0.20	0.18	0.10	0.06	-
4	2002-02-28	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	9.0
9	2002-03-05	0.28	0.12	0.09	0.07	0.07	0.00	10.6
11	2003-03-07	0.37	0.17	0.14	0.13	0.12	0.00	11.0
15	2002-03-11	0.03	0.03	0.05	0.05	0.06	0.06	11.8
18	2002-03-14	0.02	0.03	0.05	0.05	0.06	0.06	13.0
22	2002-03-18	0.00	0.00	0.00	0.04	0.10	0.19	13.1
25	2002-03-21	0.22	0.18	0.18	0.18	0.18	0.21	13.0
29	2002-03-25	0.09	0.10	0.10	0.10	0.11	0.28	13.8
32	2002-03-28	0.09	0.10	0.10	0.11	0.11	0.29	14.1
37	2002-04-02	0.09	0.09	0.10	0.10	0.11	0.28	15.2
45	2002-04-10	0.13	0.15	0.15	0.17	0.19	0.41	15.3
47	2002-04-12	0.12	0.14	0.14	0.14	0.14	0.38	15.8
51	2002-04-16	0.13	0.15	0.17	0.17	0.17	0.42	15.7
55	2002-04-20	0.11	0.15	0.20	0.24	0.21	0.48	16.6
58	2002-04-23	0.07	0.52	0.46	0.44	0.53	0.47	18.8
61	2002-04-26	0.08	0.50	0.45	0.41	0.45	0.45	18.6
65	2002-04-30	0.02	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	15.4
68	2002-05-03	0.12	0.15	0.18	0.19	0.22	0.53	17.4
73	2002-05-08	0.11	0.14	0.21	0.45	0.54	1.20	18.1
75	2002-05-10	0.13	0.16	0.19	0.24	0.24	0.36	20.1
79	2002-05-14	0.20	0.21	0.19	0.25	0.29	0.34	-



<부록 2-1-6>경과일수에 따른 NH<sub>4</sub>-N농도의 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	17.05	16.76	15.20	14.53	16.46	12.40	-
4	2002-02-28	18.95	19.08	19.57	19.32	19.57	19.80	9.0
9	2002-03-05	19.25	21.12	18.82	19.74	18.71	16.54	10.6
11	2003-03-07	15.45	18.52	17.50	17.18	15.85	15.02	11.0
15	2002-03-11	17.21	17.47	17.82	18.16	17.98	17.69	11.8
18	2002-03-14	10.26	8.22	6.30	5.83	3.62	2.31	13.0
22	2002-03-18	16.13	11.64	10.42	8.01	7.67	6.70	13.1
25	2002-03-21	13.71	15.25	13.10	10.74	10.12	8.57	13.0
29	2002-03-25	17.96	16.25	12.06	13.02	11.20	7.95	13.8
32	2002-03-28	19.25	12.35	10.25	12.25	11.23	7.95	14.1
37	2002-04-02	19.24	14.13	9.58	12.58	9.58	6.53	15.2
45	2002-04-10	19.88	11.12	12.01	11.51	11.06	8.63	15.3
47	2002-04-12	23.13	9.29	9.63	10.27	13.13	9.29	15.8
51	2002-04-16	23.87	9.64	12.08	9.02	12.43	8.13	15.7
55	2002-04-20	16.28	8.17	9.67	10.67	11.06	3.62	16.6
58	2002-04-23	19.62	11.54	11.06	10.91	10.94	1.27	18.8
61	2002-04-26	16.06	8.78	8.28	8.06	8.05	0.76	18.6
65	2002-04-30	3.21	1.76	1.66	1.61	1.61	0.15	15.4
68	2002-05-03	8.27	4.76	3.20	3.21	2.31	0.50	17.4
73	2002-05-08	17.46	6.78	5.54	3.21	4.02	1.06	18.1
75	2002-05-10	26.77	18.83	13.71	13.28	10.10	0.48	20.1
79	2002-05-14	29.58	20.65	18.81	15.05	14.49	2.63	-

<부록 2-1-7>경과일수에 따른 NO<sub>3</sub>-N의 농도의 변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	0.10	0.00	0.03	0.00	0.01	0.01	-
4	2002-02-28	0.12	0.10	0.02	0.08	0.05	0.06	9.0
9	2002-03-05	0.17	0.24	0.14	0.10	0.10	0.00	10.6
11	2003-03-07	0.21	0.24	0.13	0.10	0.08	0.00	11.0
15	2002-03-11	0.13	0.14	0.07	0.05	0.05	0.01	11.8
18	2002-03-14	0.05	0.05	0.07	0.06	0.05	0.05	13.0
22	2002-03-18	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	13.1
25	2002-03-21	0.19	0.17	0.17	0.20	0.11	0.09	13.0
29	2002-03-25	0.16	0.11	0.16	0.07	0.08	0.06	13.8
32	2002-03-28	0.15	0.12	0.16	0.08	0.09	0.07	14.1
37	2002-04-02	0.17	0.14	0.17	0.09	0.08	0.07	15.2
45	2002-04-10	0.19	0.17	0.20	0.12	0.18	0.10	15.3
47	2002-04-12	0.20	0.15	0.19	0.12	0.12	0.10	15.8
51	2002-04-16	0.32	0.22	0.28	0.27	0.26	1.10	15.7
55	2002-04-20	0.25	1.73	1.45	1.05	0.69	1.98	16.6
58	2002-04-23	0.16	1.79	1.59	1.61	1.95	5.10	18.8
61	2002-04-26	0.20	1.63	1.65	1.66	1.78	5.81	18.6
65	2002-04-30	0.03	0.22	0.23	0.25	0.28	1.06	15.4
68	2002-05-03	0.16	1.37	1.41	1.43	1.51	3.66	17.4
73	2002-05-08	0.40	4.92	4.91	4.71	5.00	9.48	18.1
75	2002-05-10	0.43	2.83	3.81	4.28	4.66	9.38	20.1
79	2002-05-14	0.43	2.26	2.41	2.70	2.99	6.34	-

&lt;부록 2-1-8&gt; 경과일수에 따른 TP의 농도변화

(단위 : mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	2.84	1.97	1.42	1.66	2.48	2.15	-
4	2002-02-28	2.95	1.76	1.80	1.56	2.25	1.56	9.0
9	2002-03-05	2.93	1.76	1.80	1.33	1.26	1.20	10.6
11	2003-03-07	1.59	1.95	1.16	1.95	1.56	0.96	11.0
15	2002-03-11	1.78	2.30	1.58	2.59	2.06	1.56	11.8
18	2002-03-14	2.20	2.56	2.50	2.56	2.21	0.63	13.0
22	2002-03-18	2.85	1.93	1.92	1.89	1.83	1.37	13.1
25	2002-03-21	2.75	1.84	1.76	1.75	1.66	1.17	13.0
29	2002-03-25	2.76	1.78	1.71	1.57	1.37	1.08	13.8
32	2002-03-28	2.73	1.68	1.98	2.58	2.46	0.91	14.1
37	2002-04-02	2.93	1.88	1.99	2.29	2.29	0.92	15.2
45	2002-04-10	2.02	2.89	1.20	1.18	1.22	0.60	15.3
47	2002-04-12	2.14	1.50	1.69	1.91	2.03	0.94	15.8
51	2002-04-16	2.48	1.39	1.07	1.39	1.88	0.64	15.7
55	2002-04-20	2.13	1.24	1.02	1.17	1.20	0.65	16.6
58	2002-04-23	1.99	1.22	1.30	0.99	0.67	0.38	18.8
61	2002-04-26	2.07	1.25	1.18	0.95	1.00	0.52	18.6
65	2002-04-30	0.86	0.48	0.41	0.30	0.34	0.14	15.4
68	2002-05-03	1.31	1.49	1.49	1.47	1.72	0.25	17.4
73	2002-05-08	2.49	2.35	2.69	2.70	2.76	2.09	18.1
75	2002-05-10	2.98	1.88	2.00	2.69	2.73	1.35	20.1
79	2002-05-14	2.37	2.02	2.20	2.40	2.53	1.39	-

<부록 2-1-9> 경과일수에 따른 PO<sub>4</sub>-P농도의 변화

(단위 :mg/ℓ)

경과일수	날짜	유입	RABC1단	RABC2단	RABC3단	RABC4단	유출	수온(℃)
1	2002-02-25	1.88	1.45	1.11	0.99	1.73	1.08	-
4	2002-02-28	1.55	1.40	1.45	1.35	1.25	1.28	9.0
9	2002-03-05	1.40	1.54	1.82	1.33	1.45	1.03	10.6
11	2003-03-07	1.32	1.52	1.71	1.20	1.38	0.93	11.0
15	2002-03-11	1.53	1.65	1.85	1.73	1.65	1.41	11.8
18	2002-03-14	0.47	0.21	0.23	0.19	0.35	0.00	13.0
22	2002-03-18	1.31	1.51	1.25	1.06	0.76	0.21	13.1
25	2002-03-21	1.26	1.17	1.06	1.05	1.09	0.35	13.0
29	2002-03-25	1.26	1.17	1.13	1.08	1.03	0.92	13.8
32	2002-03-28	1.31	1.20	1.15	1.05	1.03	0.86	14.1
37	2002-04-02	1.36	1.25	1.13	1.06	1.13	0.86	15.2
45	2002-04-10	0.96	0.86	0.90	0.93	0.95	0.37	15.3
47	2002-04-12	1.47	1.49	1.38	1.35	1.54	0.91	15.8
51	2002-04-16	1.01	1.00	0.96	0.92	0.96	0.51	15.7
55	2002-04-20	1.01	1.00	0.95	0.86	0.86	0.45	16.6
58	2002-04-23	1.00	1.19	0.92	0.97	0.62	0.37	18.8
61	2002-04-26	0.90	0.96	0.88	0.80	0.76	0.50	18.6
65	2002-04-30	0.38	0.42	0.35	0.32	0.28	0.12	15.4
68	2002-05-03	0.79	0.76	0.62	0.63	0.56	0.20	17.4
73	2002-05-08	0.50	0.42	0.45	0.53	0.54	0.25	18.1
75	2002-05-10	0.56	0.54	0.61	0.57	0.41	0.21	20.1
79	2002-05-14	1.28	1.30	1.34	1.38	1.41	1.21	-

<부록 2-2-1> 경과일수에 따른 BOD5농도변화(mg/l) 및 제거율변화(%)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
유입	69.9	64.6	65.7	125.3	123.5	124.3	120.0	76.2	85.8	120.3	126.7	142.5	138.1	168.3	85.0
유출	8.2	6.2	13.3	9.7	6.9	3.2	8.6	9.6	6.4	10.6	9.6	8.7	8.4	9.8	8.9
제거율	88.3	90.4	79.8	92.3	94.4	97.4	92.8	87.4	92.5	91.2	92.4	93.9	93.9	94.2	89.5
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
유입	67.5	62.3	76.0	82.0	90.4	102.4	113.6	113.7	137.4	140.0	126.7	113.4	104.9	101.7	86.7
유출	6.5	8.4	8.8	10.0	10.0	7.3	12.0	16.0	9.4	6.5	8.0	7.2	9.5	7.5	8.8
제거율	90.4	86.5	88.4	87.8	89.0	92.9	89.4	85.9	93.2	95.4	93.7	93.7	90.9	92.6	89.9
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
유입	78.9	84.1	96.8	82.1	103.8	101.7	102.6	101.4	137.6	97.3	80.4	88.6	89.6	124.1	92.8
유출	6.3	6.5	10.5	5.9	8.9	8.7	8.8	9.0	6.5	7.0	7.3	6.5	7.0	6.7	5.5
제거율	92.1	92.3	89.2	92.8	91.4	91.4	91.4	91.1	95.3	92.8	90.9	92.7	92.2	94.6	94.1
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
유입	126.2	106.8	110.6	112.2	111.0	106.7	85.4	92.7	67.8	117.4	103.2	103.5	86.9	72.4	102.8
유출	5.5	5.5	9.3	8.0	7.0	5.0	4.6	5.1	4.7	5.1	4.4	5.9	4.8	5.1	5.0
제거율	95.6	94.9	91.6	92.9	93.7	95.3	94.6	94.5	93.1	95.7	95.7	94.3	94.5	93.0	95.1
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
유입	118.3	112.3	131.1	59.9	106.4	121.1	104.6	110.4	94.3	102.5	126.8	89.1	103.5	93.4	114.3
유출	5.2	5.4	5.0	6.6	7.6	8.4	6.1	6.0	7.6	8.4	8.1	7.4	6.7	7.6	7.9
제거율	95.6	95.2	96.2	89.0	92.9	93.1	94.2	94.6	91.9	91.8	93.6	91.7	93.5	91.9	93.1
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	
유입	124.1	124.1	106.7	111.0	121.5	123.5	101.8	94.6	45.7	131.7	274.5	269.4	281.3	172.0	
유출	7.7	7.1	7.6	7.9	8.5	7.5	6.5	6.5	10.0	13.5	37.2	45.0	22.3	12.4	
제거율	93.8	94.3	92.9	92.9	93.0	93.9	93.6	93.1	78.2	89.8	86.4	83.3	92.1	92.8	

<부록 2-2-2> 경과일수에 따른 CODMn농도변화(mg/l) 및 제거율변화(%)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
유입	36.0	44.0	44.0	42.0	50.0	46.0	35.1	21.3	46.0	40.1	38.9	35.0	38.6	62.0	28.0
유출	8.0	8.6	8.2	7.6	6.2	5.2	6.4	6.4	8.7	8.2	8.6	9.0	9.2	8.6	6.0
제거율	77.8	80.4	81.3	81.9	87.6	88.7	81.7	70.0	81.1	79.5	77.8	74.3	76.2	86.1	78.5
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
유입	30.0	29.0	26.0	32.0	27.3	26.7	22.7	30.0	33.0	25.0	34.2	35.7	36.4	34.9	33.9
유출	7.2	8.0	9.3	6.9	8.6	9.0	8.2	9.5	7.8	8.0	9.2	10.4	7.4	6.8	7.8
제거율	76.0	72.4	64.2	78.4	68.5	66.3	63.9	68.3	76.4	68.0	73.1	70.9	79.7	80.5	77.0
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
유입	38.6	39.0	48.1	39.0	39.1	38.9	39.1	37.9	36.7	39.1	49.4	37.1	42.1	41.1	42.1
유출	9.2	8.7	8.1	6.4	6.3	6.4	6.6	6.4	6.8	6.6	6.0	6.4	5.6	6.2	5.6
제거율	76.2	77.7	83.2	83.6	83.9	83.5	83.1	83.1	81.4	83.1	87.8	82.7	86.7	84.9	86.7
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
유입	43.1	45.1	45.1	48.1	28.1	29.0	32.8	38.1	35.1	52.1	63.1	61.1	50.1	52.1	43.1
유출	5.6	5.2	7.6	5.2	6.6	6.0	5.4	6.2	5.2	5.4	5.6	5.6	6.0	6.0	6.8
제거율	87.0	88.4	83.1	89.2	76.5	79.3	83.5	83.7	85.2	89.6	91.1	90.8	88.0	88.5	84.2
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
유입	38.6	40.8	62.5	61.2	63.1	65.1	72.1	66.0	62.1	68.1	64.1	68.2	70.1	58.1	68.4
유출	6.4	6.6	7.0	7.6	7.4	8.0	8.6	8.0	7.6	7.4	7.4	9.2	9.0	9.8	9.5
제거율	83.4	83.8	88.8	87.6	88.3	87.7	88.1	87.9	87.7	89.1	88.5	86.5	87.1	83.1	86.1
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	
유입	64.1	60.1	62.1	62.1	64.1	76.1	54.1	60.1	116.0	48.0	296.0	216.0	284.0	204.0	
유출	9.6	9.6	9.4	10.0	7.2	6.5	5.2	6.3	12.0	9.6	42.0	18.0	32.0	24.0	
제거율	85.0	84.0	84.8	83.9	88.8	91.5	90.4	89.5	89.7	80.0	85.8	91.7	88.7	88.2	

<부록 2-2-3> 경과일수에 따른 TN농도변화(mg/l) 및 제거율변화(%)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
유입	40.3	36.5	37.2	30.5	28.3	28.9	28.0	40.6	49.5	24.5	34.1	31.4	32.1	37.6	31.4
유출	26.0	17.4	17.9	16.8	11.9	10.2	9.3	27.6	16.2	14.6	14.1	13.7	13.8	23.4	10.2
제거율	35.4	52.4	51.8	44.9	57.9	64.6	66.8	32.1	67.2	40.5	58.7	56.3	57.0	37.7	67.3
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
유입	33.3	32.3	29.0	45.1	41.6	38.6	46.0	46.2	37.2	32.9	36.7	37.1	32.7	35.7	42.1
유출	11.0	9.5	10.5	9.3	10.3	10.2	9.5	11.0	10.0	8.6	12.0	16.2	13.5	11.2	10.0
제거율	66.9	70.5	63.8	79.5	75.4	73.5	79.3	76.2	73.1	73.9	67.3	56.3	58.7	68.6	76.3
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
유입	39.1	38.0	48.6	41.6	40.7	40.7	41.4	36.3	38.3	40.1	50.6	37.1	42.2	38.6	40.3
유출	9.8	12.2	11.2	10.7	9.0	8.8	8.4	8.4	11.0	9.4	9.8	9.5	9.4	10.1	9.6
제거율	74.9	67.9	77.0	74.3	77.8	78.4	79.7	77.0	71.4	76.5	80.7	74.3	77.7	73.8	76.2
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
유입	40.3	40.1	42.1	40.5	27.3	38.4	34.0	36.2	37.0	26.1	44.2	48.4	47.2	48.3	41.0
유출	8.6	8.4	8.4	8.4	9.6	9.5	9.7	8.4	8.2	9.3	9.8	10.1	8.6	11.9	10.9
제거율	78.7	79.2	80.0	79.2	64.8	75.3	71.6	76.7	77.8	64.4	77.9	79.1	81.8	75.3	73.4
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
유입	36.8	44.4	45.5	55.8	60.4	58.6	68.3	52.6	50.2	54.4	50.4	70.3	70.4	62.3	70.3
유출	12.0	11.8	11.7	10.7	10.5	10.5	9.2	10.8	10.8	11.1	9.6	11.9	12.0	12.0	14.1
제거율	67.5	73.4	74.3	80.9	82.7	82.2	86.5	79.5	78.4	79.6	80.9	83.0	83.0	80.7	79.9
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	
유입	68.4	64.3	68.3	68.6	66.0	64.0	47.6	54.3	72.8	46.1	38.2	45.0	40.9	61.8	
유출	14.6	16.9	16.8	16.8	10.2	11.2	10.9	11.3	23.5	33.2	20.0	28.1	16.7	11.2	
제거율	78.7	73.7	75.4	75.5	84.6	82.5	77.1	79.2	67.8	28.0	47.7	37.5	59.1	81.9	

<부록 2-2-4> 경과일수에 따른 TP농도변화(mg/l) 및 제거율변화(%)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
유입	3.7	2.7	2.7	2.3	2.8	2.6	2.5	3.0	4.3	2.6	3.1	3.1	3.1	4.1	2.6
유출	1.8	1.6	1.6	1.6	1.6	1.4	1.2	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.3	1.7	1.4
제거율	51.5	41.8	39.6	29.6	44.1	47.1	51.6	57.2	69.3	48.6	56.8	60.4	58.7	59.2	45.0
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
유입	2.5	2.8	2.9	4.2	3.9	3.6	4.6	4.4	3.8	3.6	3.4	3.5	3.0	3.4	4.0
유출	1.4	1.2	1.8	1.3	1.3	1.3	1.3	1.6	1.7	1.6	1.5	1.8	1.5	1.5	1.3
제거율	44.4	56.1	37.5	69.5	66.2	65.3	71.1	63.9	54.4	55.6	56.5	49.4	51.3	55.9	67.9
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
유입	3.4	3.6	4.5	3.9	3.8	3.8	4.0	3.4	3.6	3.9	4.9	3.4	4.0	3.7	3.9
유출	1.2	1.6	1.7	1.7	1.5	1.6	1.6	1.7	1.6	1.5	1.5	1.7	1.5	1.5	1.5
제거율	64.3	56.3	62.8	56.0	61.3	58.9	60.1	50.3	56.7	60.9	69.2	51.2	63.7	58.7	62.0
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
유입	3.8	3.8	4.7	3.8	2.7	2.7	3.4	3.4	3.7	4.0	4.3	4.6	4.2	4.6	3.9
유출	1.4	1.2	1.5	1.4	1.3	1.3	1.5	1.3	1.4	1.2	1.4	1.3	1.4	1.2	1.2
제거율	64.9	68.0	67.7	64.1	53.1	53.3	57.4	62.6	63.5	69.0	68.0	71.7	68.0	73.2	68.9
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
유입	3.5	4.4	4.3	5.5	5.8	5.6	6.5	5.0	4.8	5.1	4.5	6.9	6.9	5.8	6.9
유출	1.3	1.2	1.3	1.3	1.3	1.2	1.2	1.3	1.5	1.8	1.4	1.7	1.7	1.7	1.7
제거율	61.6	72.0	69.9	75.6	77.3	78.3	81.5	74.2	69.4	65.3	69.5	75.2	75.6	71.0	75.5
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	
유입	6.3	6.4	6.2	6.0	6.2	5.9	5.3	5.3	7.0	14.3	4.6	3.2	4.6	5.4	
유출	1.6	1.6	1.6	1.7	1.7	1.7	1.6	1.7	1.5	5.4	2.9	0.6	1.2	1.9	
제거율	75.1	75.0	73.9	72.7	72.9	71.1	70.2	68.7	78.5	62.4	36.7	81.0	73.8	65.0	

<부록 2-2-5> 유출수의 사여과 공정에 대한 실험결과(mg/l)

구분	일수	1	7	14	22
SS	비여과	6.0	6.5	11.5	5.5
	사여과	5.0	1.5	5.5	1.5
BOD5	비여과	37.2	45.0	22.3	12.4
	사여과	35.4	38.4	10.3	6.2
CODcr	비여과	42.0	18.0	32.0	24.0
	사여과	36.0	14.0	28.0	18.0
TN	비여과	20.0	28.1	16.7	11.2
	사여과	18.5	16.1	16.9	8.5
TP	비여과	2.9	0.6	1.2	1.9
	사여과	2.2	0.4	0.7	1.0

<부록 2-2-6> 유입유량 변화(m3/d)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
유량	300	300	300	300	290	284	310	305	242	292	284	294	314	284	294
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
유량	280	265	270	275	260	265	270	255	270	275	268	272	268	273	270
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
유량	267	269	272	272	274	278	275	276	274	270	280	305	312	314	312
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
유량	308	315	309	314	309	305	260	270	308	312	307	313	305	310	310
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
유량	310	303	306	307	304	310	305	305	307	307	310	306	298	302	302
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
유량	310	306	298	302	302	304	303	300	300	320	310	320			

<부록 2-2-7> 생물반응조의 pH 변화

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	7.1	7.1	7.1	7.0	6.9	7.0	7.0	7.1	7.0	7.1	7.0	7.4	7.1	7.1	7.1
후단	6.8	6.9	6.9	6.9	6.8	7.0	6.8	6.9	6.9	6.8	7.0	7.1	7.1	7.0	7.0
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.2	7.2	7.1	7.1	7.1	7.1
후단	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	7.1	7.1	7.0	7.1	7.0	7.1	7.1	7.0	7.0	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.2
후단	7.0	7.0	6.8	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	7.0	7.0	6.9	6.8	6.9	6.9
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	7.2	7.1	7.2	7.3	7.2	7.2	7.2	7.2	7.1	7.0	7.2	7.1	7.2	7.1	7.2
후단	6.9	6.9	6.8	6.9	7.0	7.1	7.0	7.1	7.0	6.9	7.0	6.9	7.1	7.0	7.0
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	7.2	7.2	7.1	7.1	7.1	7.0	7.2	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.0	7.1
후단	7.1	7.0	6.9	6.8	6.9	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	6.9	7.0
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.2	7.4	7.4	7.4	7.2	7.7			
후단	6.9	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.1	7.2	7.3	7.3	7.1	7.6			

<부록 2-2-8> 생물반응조의 SV30 변화

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	22	24	24	26	27	24	26	24	22	22	22	24	25	27	38
후단	21	22	23	22	24	22	24	22	22	22	20	22	22	26	40
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	31	33	32	32	34	32	30	32	31	32	33	31	32	30	28
후단	30	31	30	31	32	30	29	30	30	30	31	29	28	31	30
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	29	28	27	24	24	25	25	25	26	24	24	26	24	30	32
후단	31	29	27	30	28	30	29	27	24	29	29	24	26	32	36
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	38	40	40	43	44	45	48	47	52	54	56	58	60	62	64
후단	36	37	38	42	42	50	51	50	54	55	60	60	62	63	65
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	63	64	66	70	70	70	72	70	73	74	74	74	74	74	72
후단	64	65	64	67	71	72	74	73	74	75	74	75	72	73	71
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	73	75	74	75	73	76	79	86	78	76	57	70			
후단	71	74	73	72	70	74	76	82	76	72	54	68			

<부록 2-2-9> 생물반응조의 SVI 변화

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	73.3	77.4	80.0	83.9	84.4	75.0	81.3	77.4	71.0	71.0	68.8	72.7	75.8	81.8	102.7
후단	70.0	73.3	76.7	73.3	77.4	73.3	76.2	73.3	73.3	73.3	64.5	68.8	68.8	83.9	111.1
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	83.8	84.6	86.5	91.4	91.9	84.2	78.9	80.0	81.6	86.5	86.8	86.1	86.5	85.7	84.8
후단	83.3	83.8	85.7	93.9	88.9	83.3	76.3	78.9	81.1	85.7	83.8	82.9	80.0	86.1	85.7
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	85.3	87.5	81.8	75.0	72.7	83.3	83.3	86.2	89.7	87.3	80.5	90.0	88.9	100.0	103.2
후단	86.1	87.9	79.4	93.8	93.3	100.0	100.0	93.1	85.7	107.4	107.4	86.3	92.9	108.5	116.1
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	122.6	125	125	130.3	129.4	132.4	141.2	142.4	148.6	154.3	155.6	161.1	166.7	167.6	173
후단	100	115.6	115.2	127.3	127.3	147.1	150	147.1	154.3	152.8	166.7	166.7	167.6	170.3	175.7
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	170.3	173	178.4	189.2	189.2	194.4	200	189.2	202.8	200	194.7	200	211.4	205.6	205.7
후단	177.8	175.7	173	186.1	191.9	194.6	200	197.3	200	197.4	200	202.7	205.7	208.6	197.2
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	202.8	208.3	211.4	208.3	197.3	211.1	207.9	220.5	200	190	154.1	175			
후단	197.2	211.4	208.6	205.7	194.4	205.6	205.4	210.3	200	180	147.9	170			

<부록 2-2-10> 생물반응조의 MLSS 변화(mg/l)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	3000	3100	3000	3100	3200	3200	3200	3100	3100	3100	3200	3300	3300	3300	3700
후단	3000	3000	3000	3000	3100	3000	3150	3000	3000	3000	3100	3200	3200	3100	3600
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	3700	3900	3700	3500	3700	3800	3800	4000	3800	3700	3800	3600	3700	3500	3300
후단	3600	3700	3500	3300	3600	3600	3800	3800	3700	3500	3700	3500	3500	3600	3500
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	3400	3200	3300	3200	3300	3000	3000	2900	2900	2750	2980	2890	2700	3000	3100
후단	3600	3300	3400	3200	3000	3000	2900	2900	2800	2700	2700	2780	2800	2950	3100
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	3100	3200	3200	3300	3400	3400	3400	3300	3500	3500	3600	3600	3600	3700	3700
후단	3600	3200	3300	3300	3300	3400	3400	3400	3500	3600	3600	3600	3700	3700	3700
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	3700	3700	3700	3700	3700	3600	3600	3700	3600	3700	3800	3700	3500	3600	3500
후단	3600	3700	3700	3600	3700	3700	3700	3700	3700	3800	3700	3700	3500	3500	3600
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	3600	3600	3500	3600	3700	3600	3800	3900	3900	4000	3700	4000			
후단	3600	3500	3500	3500	3600	3600	3700	3900	3800	4000	3650	4000			

<부록 2-2-11> 생물반응조의 DO 변화(mg/l)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	1.2	1	1.2	1	1.2	1.2	1	1	1.2	1.1	1	1	1	1	1.1
후단	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	1.2	1.1	1.3	1.2	1	1.2	1	1.1	1.2	1	1.1	1.2	1.2	1.3	1.1
후단	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	1.1	1.2	1.3	1.2	1.2	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.1	1.2	1.3	1	1
후단	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	1.2	1.3	1	1.3	1.2	1.3	1.3	1.3	1.2	1.2	1.3	1.3	1.2	1.3	1.2
후단	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	1.3	1.3	1.1	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.3	1.3	1.2	1.4	1.3	1.4
후단	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	1.3	1.3	1.2	1.2	1.3	1.2	1.2	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1			
후단	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1			

<부록 2-2-12> 생물반응조의 수온 변화(℃)

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
전단	25.0	24.0	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	23.0	23.0
후단	25.0	24.0	26.0	26.0	26.9	26.0	26.0	28.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	23.0	23.0
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
전단	23.0	23.0	23.0	21.0	21.0	21.0	21.0	20.5	20.5	20.0	19.5	19.5	20.0	19.0	16.0
후단	23.0	23.0	23.0	21.0	21.0	21.0	21.0	20.5	20.5	20.0	19.5	19.5	20.0	19.0	16.0
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
전단	16.0	16.0	16.5	15.0	15.0	15.0	16.5	15.0	14.2	14.4	14.5	15.2	14.2	14.8	14.6
후단	16.0	16.0	16.5	15.0	15.0	15.0	16.5	15.0	14.2	14.2	14.3	15.0	14.0	14.9	14.5
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
전단	15.0	15.0	14.5	13.0	12.8	13.0	13.2	13.5	13.8	13.2	12.8	12.7	13.2	13.8	14.0
후단	15.0	15.0	14.0	13.0	12.8	13.0	13.2	13.5	13.8	13.2	12.8	12.7	13.2	13.8	14.0
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
전단	14.3	14.8	14.2	12.3	11.8	12.3	11.7	11.6	12.6	12.8	13.0	12.7	13.4	12.6	11.4
후단	14.3	14.8	13.9	12.3	11.8	12.3	11.7	11.6	12.6	12.8	12.8	12.5	13.2	12.4	11.3
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
전단	10.7	10.6	11.3	9.5	9.2	8.5	10.0	13.4	12.8	13.5	14.6	17.6			
후단	10.5	10.4	11.1	9.3	9.1	8.9	12.0	13.2	12.7	13.7	14.4	17.4			

<부록 2-2-13> 반송비 변화

일수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
포기액⇒S-BC	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
포기액⇒반응조	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
슬러지⇒S-BC	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
슬러지⇒반응조	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
일수	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
포기액⇒S-BC	0.4	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.2
포기액⇒반응조	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	1.0	1.0
슬러지⇒S-BC	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.1
슬러지⇒반응조	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
일수	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
포기액⇒S-BC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
포기액⇒반응조	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
슬러지⇒S-BC	0.2	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
슬러지⇒반응조	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
일수	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
포기액⇒S-BC	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
포기액⇒반응조	1.0	1.0	0.4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8
슬러지⇒S-BC	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
슬러지⇒반응조	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
일수	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
포기액⇒S-BC	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
포기액⇒반응조	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
슬러지⇒S-BC	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
슬러지⇒반응조	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
일수	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87			
포기액⇒S-BC	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6	0.6			
포기액⇒반응조	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8			
슬러지⇒S-BC	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4			
슬러지⇒반응조	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5			



<부록 2-3> RABC 장치의 생물막에서 검출된 종속영양세균의 표현형적 특성 및 세포막의 지질 프로파일에 의거한 MIDI 시스템에 의한 동정 결과

No. of bacterial isolates	Gram stain	Cell morphology <sup>a</sup>	Oxidase test	Catalase test	Spore	Closest species name by MIDI system	Similarity by MIDI system	Phylogenetic group
HB1	+	C	-	+	-	<i>Arthrobacter agilis</i>	0.510	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB2	-	R	-	+	-	Not tested		
HB3	-	R	+	+	-	Not tested		
HB4	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium striatum</i>	0.523	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB5	+	R	-	+	-	<i>Microbacterium saperdae</i>	0.459	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB6	+	C	-	+	-	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0.518	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB7	-	C	-	+	-	Not tested		
HB8	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.766	Gammaproteobacteria
HB9	-	R	+	+	-	Not tested		
HB10	+	C	-	+	-	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0.473	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB11	+	R	+	+	-	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	0.227	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB12	+	C	-	+	-	<i>Kocuria kristinae</i>	0.910	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB13	+	R	-	+	-	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	0.566	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB14	+	R	-	+	+	<i>Paenibacillus apiarius</i>	0.785	Firmicutes(Low G+C gram-positive bacteria)
HB15	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.767	Gammaproteobacteria
HB16	-	R	-	+	-	<i>Enterococcus solitarius</i>	0.169	Firmicutes(Low G+C gram-positive bacteria)
HB17	+	C	-	+	-	<i>Arthrobacter agilis</i>	0.530	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB18	+	R	-	+	-	No match		
HB19	-	R	-	+	-	No match		
HB20	-	R	+	+	-	No match		
HB21	-	R	-	+	-	<i>Tsukamurella paurometabolum</i>	0.578	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB22	-	R	+	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.868	Gammaproteobacteria
HB23	-	R	-	+	-	Not tested		
HB24	-	R	+	+	-	<i>Acidovorax facilis</i>	0.736	Betaproteobacteria
HB25	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.677	Gammaproteobacteria
HB26	-	R	-	+	-	Not tested		
HB27	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.823	Gammaproteobacteria
HB28	-	R	+	+	-	<i>Enterococcus avium</i>	0.099	Firmicutes(Low G+C gram-positive bacteria)
HB29	-	R	-	+	-	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.314	Gammaproteobacteria
HB30	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas salmonicida</i>	0.851	Gammaproteobacteria
HB31	+	R	-	+	-	Not tested		
HB32	+	R	-	+	-	Not tested		
HB33	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium callunae</i>	0.483	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB34	-	R	-	+	-	Not tested		
HB35	+	C	-	+	-	<i>Gordonia bronchialis</i>	0.070	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB36	-	R	-	+	-	<i>Acidovorax facilis</i>	0.408	Betaproteobacteria
HB37	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium striatum</i>	0.237	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB38	-	R	-	+	-	<i>Acidovorax facilis</i>	0.816	Betaproteobacteria
HB39	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	0.119	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB40	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium striatum</i>	0.496	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)

No. of bacterial isolates	Gram stain	Cell morphology <sup>a</sup>	Oxidase test	Catalase test	Spore	Closest species name by MIDI system	Similarity by MIDI system	Phylogenetic group
HB41	-	R	-	+	-	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.340	Gammaproteobacteria
HB42	-	R	-	+	-	Not tested		
HB43	+	C	-	+	-	<i>Gordonia terrae</i>	0.784	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB44	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas salmonicida</i>	0.898	Gammaproteobacteria
HB45	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.665	Gammaproteobacteria
HB46	-	R	+	+	-	Not tested		
HB47	-	R	+	+	-	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	0.878	Gammaproteobacteria
HB48	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.636	Gammaproteobacteria
HB49	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas salmonicida</i>	0.819	Gammaproteobacteria
HB50	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>	0.195	Gammaproteobacteria
HB51	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas salmonicida</i>	0.733	Gammaproteobacteria
HB52	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	0.775	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB53	-	R	-	+	-	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.339	Gammaproteobacteria
HB54	+	C	-	+	-	<i>Rhodococcus globerulus</i>	0.522	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB55	-	R	-	+	-	Not tested		
HB56	+	R	+	+	-	No match		
HB57	+	C	-	+	-	<i>Arthrobacter aurescens</i>	0.825	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB58	+	R	-	+	-	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	0.749	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB59	+	C	-	+	-	<i>Arthrobacter aurescens</i>	0.753	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB60	+	C	-	+	-	<i>Rhodococcus globerulus</i>	0.583	Actinobacteria(High G+C gram-positive bacteria)
HB61	-	R	+	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.843	Gammaproteobacteria
HB62	-	R	+	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.855	Gammaproteobacteria
HB63	-	R	+	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.856	Gammaproteobacteria
HB64	-	R	+	+	-	<i>Aeromonas caviae</i>	0.673	Gammaproteobacteria

<sup>a</sup>C, cocci; R, rods.

<부록 2-4> 분석된 바실러스균주 Ni1의 16S rDNA 염기서열 텍스트 파일(734bp)

CGCTGACCGCGTGCCTAATNTTGCAAGTCGAGCCGGACAGATGGGAGC

TAACACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAC

TGGTTCANACATAAAAGGNGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGAC

TCACCAAGGCNACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCAC

GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAG

GTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCG

CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTG

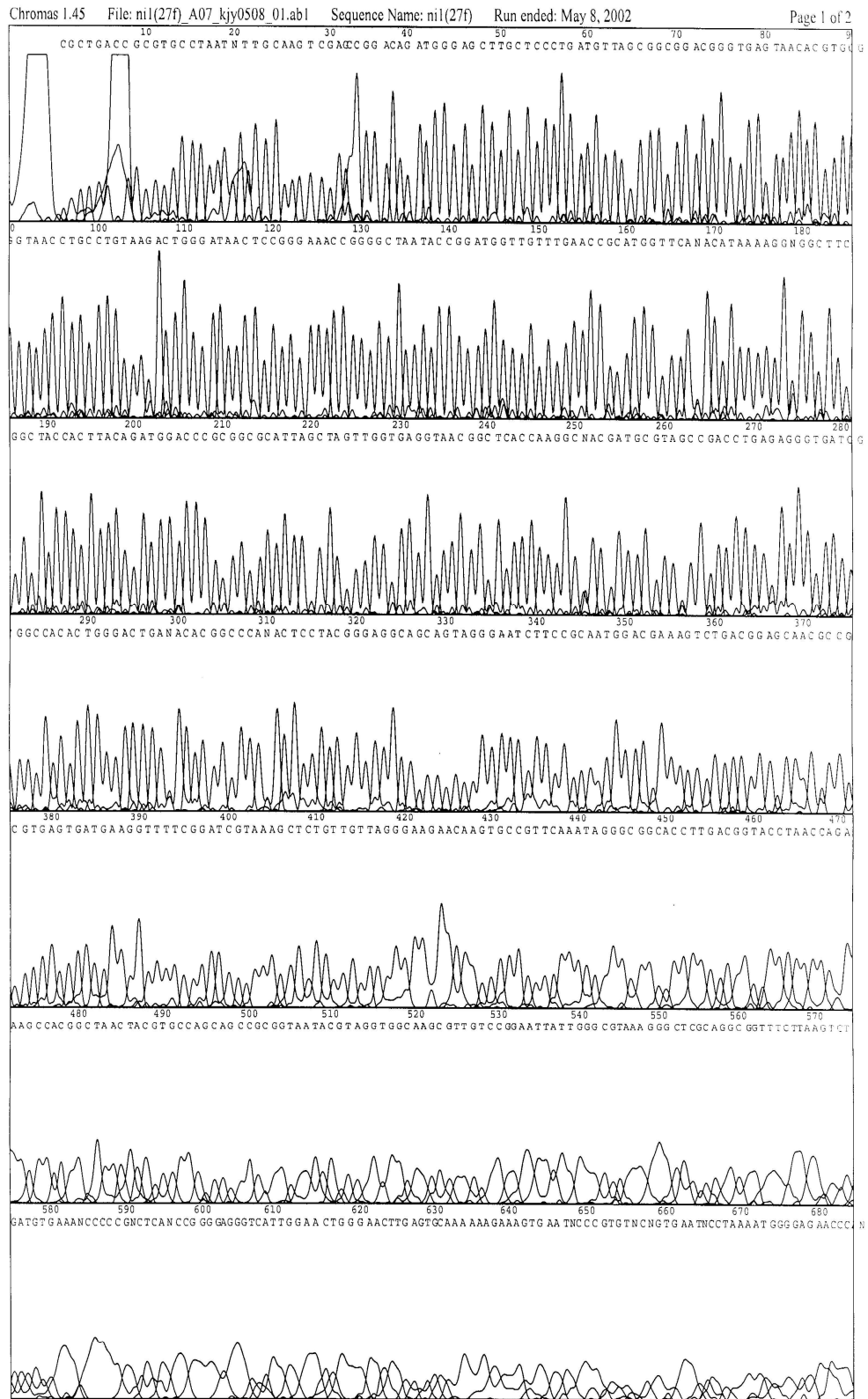
GGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAANCCCCGNCTCANCCGGGGAGGGT

AGTGAATNCCCGTGTNCNGTGAATNCCTAAAATGGGGAGAACCCANN

AACTGGGAAANAAN

(A: adenine, G: guanine, C: cytosine, T: thymine, N: 모름)

<부록 2-5> 분석된 바실러스균주 Ni1의 16S rDNA 염기서열 그림 파일(734bp)



## <부록 2-6> 바실러스균주 Ni1의 16S rDNA 염기서열의 NCBI의 BLASTn 결과

### BLASTN 2.2.6 [Apr-09-2003]

#### Reference :

Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Sch m ffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

RID: 1058431915-012626-14000

Query= (560 letters)

**Database:** All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)

1,828,583 sequences; 8,622,823,974 total letters

If you have any problems or questions with the results of this search please refer to the [BLAST FAQs](#)

#### Taxonomy reports

### Distribution of 109 Blast Hits on the Query Sequence

	Score	E	(bits)	Value
Sequences producing significant alignments:				
<a href="#">gi 26050884 gb AF539642.1 </a>	Bacillus sp. Ni1 16S ribosomal R...	<a href="#">1074</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050905 gb AF539663.1 </a>	Bacillus sp. Ni22 16S ribosomal ...	<a href="#">1035</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050900 gb AF539658.1 </a>	Bacillus sp. Ni17 16S ribosomal ...	<a href="#">1035</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050906 gb AF539664.1 </a>	Bacillus sp. Ni23 16S ribosomal ...	<a href="#">1027</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050899 gb AF539657.1 </a>	Bacillus sp. Ni16 16S ribosomal ...	<a href="#">1025</a>	0.0	
<a href="#">gi 28274164 gb AY186037.1 </a>	Bacillus sp. EBI3 16S ribosomal ...	<a href="#">1023</a>	0.0	
<a href="#">gi 13560604 gb AF346491.1 </a>	<a href="#">AF346491</a> Bacillus sp. BAC2 16S ri...	<a href="#">1023</a>	0.0	
<a href="#">gi 4587041 dbj AB018487.1 </a>	Bacillus subtilis gene for 16S r...	<a href="#">1023</a>	0.0	
<a href="#">gi 4519613 dbj AB017592.1 </a>	Bacillus sp. gene for 16S rRNA, ...	<a href="#">1023</a>	0.0	
<a href="#">gi 4519612 dbj AB017591.1 </a>	Bacillus sp. gene for 16S rRNA, ...	<a href="#">1023</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050914 gb AF539672.1 </a>	Bacillus sp. Ni31 16S ribosomal ...	<a href="#">1019</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050896 gb AF539654.1 </a>	Bacillus sp. Ni13 16S ribosomal ...	<a href="#">1019</a>	0.0	
<a href="#">gi 27652461 gb AY172514.1 </a>	Bacillus subtilis isolate BS-1 1...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 27652460 gb AY172513.1 </a>	Bacillus subtilis isolate BS-2 1...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050917 gb AF539675.1 </a>	Bacillus sp. Ni34 16S ribosomal ...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050901 gb AF539659.1 </a>	Bacillus sp. Ni18 16S ribosomal ...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 4519611 dbj AB017590.1 </a>	Bacillus sp. gene for 16S rRNA, ...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 4519610 dbj AB017589.1 </a>	Bacillus sp. gene for 16S rRNA, ...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 4519609 dbj AB017588.1 </a>	Bacillus sp. gene for 16S rRNA, ...	<a href="#">1017</a>	0.0	
<a href="#">gi 19569754 gb AF489591.1 </a>	Bacillus amyloliquefaciens strai...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 19568775 gb AF479349.1 </a>	Glacial ice bacterium G200-SD1 1...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 15705859 gb AF411118.1 </a>	<a href="#">AF411118</a> Bacillus sp. Bch1 16S ri...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 9652350 gb AF287011.1 </a>	<a href="#">AF287011</a> Bacillus subtilis strain ...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 13928542 dbj AB050667.1 </a>	Bacillus sp. PP19-H3 gene for 1...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 7209528 dbj AB021181.1 </a>	Bacillus atrophaeus gene for 16S...	<a href="#">1015</a>	0.0	
<a href="#">gi 26050910 gb AF539668.1 </a>	Bacillus sp. Ni27 16S ribosomal ...	<a href="#">1013</a>	0.0	
<a href="#">gi 22093909 gb AF399911.1 </a>	Bacillus subtilis subsp. endophy...	<a href="#">1013</a>	0.0	
<a href="#">gi 28864547 gb AY207468.1 </a>	Bacillus subtilis strain KS03 16...	<a href="#">1013</a>	0.0	

#### Alignments

>[gi|26050884|gb|AF539642.1|](#) Bacillus sp. Ni1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Length = 560

Score = 1074 bits (542), Expect = 0.0

Identities = 554/560 (98%)

Strand = Plus / Plus

Query: 1 cgctgaccgcgtgcctaattnttgcaagtcgagccggacagatgggagcttgcctccctgat 60  
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Sbjct: 1 cgctgaccgcgtgcctaattcttgcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctgat 60

Query: 61 gtttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactcc 120  
 |||

Sbjct: 61 gtttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactcc 120

Query: 121 gggaaaccggggctaataaccggatggttgtttgaaccgcatggttcanacataaaaggng 180  
 |||

Sbjct: 121 gggaaaccggggctaataaccggatggttgtttgaaccgcatggttcagacataaaagggtg 180

Query: 181 gcttcggctaccacttacagatggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggc 240  
 |||

Sbjct: 181 gcttcggctaccacttacagatggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggc 240

Query: 241 tcaccaaggcnacgatgcgtagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgana 300  
 |||

Sbjct: 241 tcaccaaggcgacgatgcgtagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgaga 300

Query: 301 cacggcccanactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtct 360  
 |||

Sbjct: 301 cacggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtct 360

Query: 361 gacggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagctctgttgtaggg 420  
 |||

Sbjct: 361 gacggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagctctgttgtaggg 420

Query: 421 aagaacaagtgccgttcaaatagggcggcaccttgacggtacctaaccagaaagccacgg 480  
 |||

Sbjct: 421 aagaacaagtgccgttcaaatagggcggcaccttgacggtacctaaccagaaagccacgg 480

Query: 481 ctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttggtccggaattattg 540  
 |||

Sbjct: 481 ctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttggtccggaattattg 540

Query: 541 ggcgtaaagggtcgcagggc 560  
 |||

Sbjct: 541 ggcgtaaagggtcgcagggc 560

>[gi|26050905|gb|AF539663.1|](#) Bacillus sp. Ni22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Length = 560

Score = 1035 bits (522), Expect = 0.0

Identities = 547/556 (98%), Gaps = 1/556 (0%)

Strand = Plus / Plus

Query: 1 cgctgaccgcgtgcctaattt-gcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctga 59  
 |||

Sbjct: 5 cgctggccgcgtgcctaatttcttgcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctga 64

Query: 60 tgtttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactc 119  
 |||

Sbjct: 65 tgtttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactc 124

Query: 120 cgggaaaccggggctaataaccggatggttgtttgaaccgcatggttcanacataaaaggng 179  
 |||

Sbjct: 125 cgggaaaccggggctaataaccggatggttgtttgaaccgcatggttcagacataaaagggt 184

Query: 180 ggcttcggctaccacttacagatggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacgg 239  
 |||

Sbjct: 185 ggcttcggctaccacttacagatggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacgg 244

Query: 240 ctcaccaaggcnacgatgcgtagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgan 299  
 |||

Sbjct: 245 ctcaccaaggcgacgatgcgtagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgag 304

Query: 300 acacggcccanactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtc 359  
 |||

Sbjct: 305 acacggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtc 364

Query: 360 tgacggagcaacgccgcgtgagtgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagg 419  
 |||||

Sbjct: 365 tgacggagcaacgccgcgtgagtgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagg 424

Query: 420 gaagaacaagtgccgttcaaatagggcggcaccttgacgggtacctaaccagaaagccacg 479  
 |||

Sbjct: 425 gaaaaacaagtgccgttcaaatagggcggcaccttgacgggtacctaaccagaaagccacg 484

Query: 480 gctaactacgtgccagcagccgcggttaatacgtaggtggcaagcgttgccggaattatt 539  
 |||||

Sbjct: 485 gctaactacgtgccagcagccgcggttaatacgtaggtggcaagcgttgccggaattatt 544

Query: 540 gggcgtaaagggtcg 555  
 |||||

Sbjct: 545 gggcgtaaagggtcg 560

>[gi|28274164|gb|AY186037.1](#) Bacillus sp. EBI3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Length = 676  
 Score = 1023 bits (516), Expect = 0.0  
 Identities = 533/539 (98%), Gaps = 1/539 (0%)  
 Strand = Plus / Plus

Query: 22 tgcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 81  
 |||||

Sbjct: 11 tgcaagtcgagc-ggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 69

Query: 82 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 141  
 |||||

Sbjct: 70 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 129

Query: 142 gatggttgtttgaaccgcatggttcacacataaaaggnggcttcggctaccacttacaga 201  
 |||||

Sbjct: 130 gatggttgtttgaaccgcatggttcagacataaaagggtggcttcggctaccacttacaga 189

Query: 202 tggaccgcggcgccattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcnacgatgcgta 261  
 |||||

Sbjct: 190 tggaccgcggcgccattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcgacgatgcgta 249

Query: 262 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactganacacggcccanactcctacggg 321  
 |||||

Sbjct: 250 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactgagacacggccagactcctacggg 309

Query: 322 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 381  
 |||||

Sbjct: 310 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 369

Query: 382 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaaata 441  
 |||||

Sbjct: 370 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaaata 429

Query: 442 agggcggcaccttgacgggtacctaaccagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 501  
 |||||

Sbjct: 430 agggcggcaccttgacgggtacctaaccagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 489

Query: 502 cggttaatacgtaggtggcaagcgttgccggaattattgggcgtaaagggtcgagggc 560  
 |||||

Sbjct: 490 cggttaatacgtaggtggcaagcgttgccggaattattgggcgtaaagggtcgagggc 548

>[gi|13560604|gb|AF346491.1|AF346491](#) Bacillus sp. BAC2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Length = 1420  
 Score = 1023 bits (516), Expect = 0.0  
 Identities = 533/539 (98%), Gaps = 1/539 (0%)  
 Strand = Plus / Plus

Query: 22 tgcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 81  
 |||||  
 Sbjct: 15 tgcaagtcgagc-ggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 73

Query: 82 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 141  
 |||||  
 Sbjct: 74 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 133

Query: 142 gatggttgtttgaaccgcatggttcacacataaaaggnggcttcggctaccacttacaga 201  
 |||||  
 Sbjct: 134 gatggttgtttgaaccgcatggttcagacataaaagggtggcttcggctaccacttacaga 193

Query: 202 tggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcnacgatgcgta 261  
 |||||  
 Sbjct: 194 tggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcgacgatgcgta 253

Query: 262 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactganacacggccanactcctacggg 321  
 |||||  
 Sbjct: 254 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactgagacacggccagactcctacggg 313

Query: 322 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 381  
 |||||  
 Sbjct: 314 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 373

Query: 382 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaaat 441  
 |||||  
 Sbjct: 374 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaaat 433

Query: 442 agggcgccaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 501  
 |||||  
 Sbjct: 434 agggcgccaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 493

Query: 502 cggtataacgtaggtggcaagcgttgctccggaattattgggcgtaaagggctcgcaggc 560  
 |||||  
 Sbjct: 494 cggtataacgtaggtggcaagcgttgctccggaattattgggcgtaaagggctcgcaggc 552

>[gi|4587041|dbj|AB018487.1](#) Bacillus subtilis gene for 16S rRNA, partial  
 sequence, strain:ATCC  
 21331  
 Length = 1504  
 Score = 1023 bits (516), Expect = 0.0  
 Identities = 533/539 (98%), Gaps = 1/539 (0%)  
 Strand = Plus / Plus

Query: 22 tgcaagtcgagccggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 81  
 |||||  
 Sbjct: 31 tgcaagtcgagc-ggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgacgggtgagt 89

Query: 82 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 141  
 |||||  
 Sbjct: 90 aacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggggctaataaccg 149

Query: 142 gatggttgtttgaaccgcatggttcacacataaaaggnggcttcggctaccacttacaga 201  
 |||||  
 Sbjct: 150 gatggttgtttgaaccgcatggttcagacataaaagggtggcttcggctaccacttacaga 209

Query: 202 tggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcnacgatgcgta 261  
 |||||  
 Sbjct: 210 tggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcaacgatgcgta 269

Query: 262 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactganacacggccanactcctacggg 321  
 |||||  
 Sbjct: 270 gccgacctgagaggggtgatcggccacactgggactgagacacggccagactcctacggg 329

Query: 322 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 381  
 |||||  
 Sbjct: 330 aggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgag 389



Query: 382 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaa 441  
 |||||  
 Sbjct: 390 tgatgaagggttttcggatcgtaaagctctgttgtagggaagaacaagtgccgttcaa 449

Query: 442 agggcggcaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 501  
 |||||  
 Sbjct: 450 agggcggcaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagcagccg 509

Query: 502 cggtaatacgttaggtggcaagcggtgtccggaattattgggcgtaaagggctcgagccg 560  
 |||||  
 Sbjct: 510 cggtaatacgttaggtggcaagcggtgtccggaattattgggcgtaaagggctcgagccg 568

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS,  
 or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)

Posted date: Jul 16, 2003 11:14 PM

Number of letters in database: -24,322,264

Number of sequences in database: 1,815,295

Lambda	K	H
1.37	0.711	1.31

Gapped		
Lambda	K	H
1.37	0.711	1.31

Matrix: blastn matrix:1 -3

Gap Penalties: Existence: 5, Extension: 2

Number of Hits to DB: 1,302,016

Number of Sequences: 1828583

Number of extensions: 1302016

Number of successful extensions: 236832

Number of sequences better than 10.0: 85739

Number of HSP's better than 10.0 without gapping: 85532

Number of HSP's successfully gapped in prelim test: 207

Number of HSP's that attempted gapping in prelim test: 21163

Number of HSP's gapped (non-prelim): 196391

length of query: 560

length of database: 8,622,823,974

effective HSP length: 21

effective length of query: 539

effective length of database: 8,584,423,731

effective search space: 4627004391009

effective search space used: 4627004391009

T: 0

A: 0

X1: 6 (11.9 bits)

X2: 15 (29.7 bits)

S1: 12 (24.3 bits)

S2: 20 (40.1 bits)

<부록 2-7> RABC 생물막 16S rDNA의 Blast 결과

클론이름	유전자 가장 비슷한 데이터베이스상의 클론이나 균주	채취장소 및 미생물 특성	일치염기수/비교염기수 (일치도)	계통분류계급								
				Super-phylum	Phylum (문)	Class (강)	Subclass (아강)	Order (목)	Suborder (아목)	Family (과)	Genus (속)	Species (종)
Bf1	<i>Bacillus subtilis</i>		548/554 (98%)		Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>
Bf2	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	602/609 (98%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf3	<i>Bacillus subtilis</i>		548/554 (98%)		Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>
Bf4	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	478/502 (95%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf5	uncultured bacterium Tb3-AH	ferric iron-reducing bacteria	406/417 (97%)		environmental samples							environmental samples
Bf6	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	554/568 (97%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf7	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	383/401 (95%) 106/117 (90%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf8	uncultured eubacterium clone 3	denitrifying bacteria from leachate reactor	566/599 (94%)		Proteobacteria	Betaproteobacteria						environmental samples
Bf9	uncultured sludge bacterium clone S21	nitrifying-denitrifying activated sludge	536/542 (98%)		Proteobacteria	Betaproteobacteria						environmental samples
Bf10	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	605/618 (97%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf11	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	118/128 (92%) 42/47 (89%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf12	<i>Bacillus subtilis</i>		551/560 (98%)		Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>
Bf13	<i>Acinetobacter</i> sp. anoxic	phosphorus removal in SBR	514/530 (96%)		Proteobacteria	Gamma proteobacteria		Pseudomonadales		Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.
Bf14	<i>Stenotrophomonas minatitlanensis</i>		313/351 (89%) 58/61 (95%)		Proteobacteria	Gamma proteobacteria		Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>S. minatitlanensis</i>
Bf15	uncultured planctomycete clone PLA1	autotrophic N removal from RBC biofilm	468/496 (94%)		Planctomycetes	Planctomycetacia		Planctomycetales				environmental samples

균주 번호	유전자가 가장 비슷한 데이터베이스상 의 클론이나 균주	특성	일치염기 수/비교 염기수 (일치도)	계통분류계급								
				Super- phylum	Phylum (문)	Class (강)	Subclass (아강)	Order (목)	Suborde r(아목)	Family (과)	Genus (속)	Species (종)
Bf16	<i>Zoogloea resiniphila</i>	resin acid growing bacteria from SBR	512/559 (91%)		Proteob acteria	Betapro teobacter ia		Rhodoc yclales		Rhodocy claceae	<i>Zoogloe a</i>	<i>Z. resiniphi la</i>
Bf17	uncultured betaproteobacter ia clone UCT	phosphorus removal wastewater treatment plant	502/535 (93%)		Proteob acteria	Betapro teobacter ia						environ mental samples
Bf18	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	562/579 (97%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf19	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	151/167 (90%) 129/149 (86%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf20	uncultured sludge bacterium clone S21	nitrifying- denitrifying activated sludge	560/571 (98%)		Proteob acteria	Betapro teobacter ia						environ mental samples
Bf21	<i>Rhodoferrax fermentans</i>	phototroph ic bacteria	584/609 (95%)		Proteob acteria	Betapro teobacter ia		Burkhol deriales		Comamo nadaceae	<i>Rhodoferr ax</i>	<i>R. fermenta ns</i>
Bf22	<i>Xanthomonas campestris</i>		526/572 (91%)		Proteob acteria	Gamma proteob acteria		Xantho monada les		Xanthom onadacea e	<i>Xanthom onas</i>	<i>X. campest ris</i>
Bf23	uncultured sludge bac. A21	nitrifying- denitrifying activated sludge	325/347 (93%) 128/152 (84%)	Chlamydiae/Verru comicro bia	Verruco microbi a							environ mental samples
Bf24	<i>Dechloromonas</i> sp. MissR	perchlorate reducing in sludge of KNR process	600/614 (97%)		Proteob acteria	Betapro teobacter ia		Rhodoc yclales		Rhodocy claceae	<i>Dechloro monas</i>	<i>Dechloro monas</i> sp.
Bf25	uncultured bacterium clone PHOS-HE45	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	209/227 (92%) 151/176 (85%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf26	<i>Clostridium carboxidivorans</i>	agricultural settling lagoon	518/545 (95%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>C. carboxid ivorans</i>
Bf27	unidentified bacterium clone Sai4P3-66	water reservoir sediment	384/405 (94%)		Firmicu tes	Clostrid ia						environ mental samples
Bf28	<i>Clostridium aff. estheticum</i> A-1/C-an/C1	Antarctica mat from lake	578/602 (96%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>C. aff. estheti cum</i>
Bf29	<i>Clostridium difficile</i> strain 79685		516/567 (91%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>C. difficile</i>
Bf30	<i>Planctomyces</i> sp. (Schlesner 658)		339/375 (90%) 101/106 (95%)		Plancto mycetes	Plancto mycetac ia		Plancto mycetal es		Plancto mycetac eae	<i>Plancto myces</i>	<i>Plancto myces</i> sp. (Schlesn er 658)



균주 번호	유전자 가장 비슷한 데이터베이스상 의 클론이나 균주	특성	일치염기 수/비교 염기수 (일치도)	계통분류계급								
				Super- phylum	Phylum (문)	Class (강)	Subclass (아강)	Order (목)	Suborde r(아목)	Family (과)	Genus (속)	Species (종)
Bf48	uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone ML617.5J-5	soda lake	324/373 (86%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf49	<i>Methylosystis</i> sp. KS7, strain KS7	methane-o xidizing bacteria from oxic surface sediment	462/479 (96%)		Proteob acteria	Alphapr oteobac teria		Rhizobi ales		Methylo cystacea e	<i>Methylo systis</i>	<i>Methylo systis</i> sp. KS7
Bf50	<i>Dechloromonas</i> sp. MissR	perchlorate -reducing bacteria	541/550 (98%)		Proteob acteria	Betapro teobacte ria		Rhodoc yclales		Rhodocy claceae	<i>Dechloro monas</i>	<i>Dechloro monas</i> sp.
Bf51	uncultured deltaproteobacte rium clone JG37-AG-55	uranium mining waste piles and mill tailings	344/387 (88%) 77/95 (81%)		Proteob acteria	Deltapr oteobac teria						environ mental samples
Bf52	uncultured sludge bacterium A15b	nitrifying- denitrifying activated sludge	135/142 (95%) 82/95 (86%)		Proteob acteria	Alphapr oteobac teria						environ mental samples
Bf53	uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp. 9BAF	autotrophic ammonium -oxidizing bacteria in aquatic systems	340/405 (83%)		Proteob acteria	Betapro teobacte ria		Nitroso monada les		Nitroso monadac eae	<i>Nitroso monas</i>	<i>Nitroso monas</i> sp.
Bf54	<i>Clostridium aff.</i> <i>estheticum</i> A-1/C-an/C1	Antarctica mat from lake	508/531 (95%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>C. aff. estheti cum</i>
Bf55	uncultured eubacterium clone F13.30	sludge bacterium from sewage treatment plant	507/558 (90%)	environ mental samples								environ mental samples
Bf56	Uncultured CFB group bacterium clone TAF-B76	river Taff epilithon	540/562 (96%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf57	uncultured bactrium clone SHA-123	1,2-dichlor opropane dechlorinat ed bacteria	603/630 (95%)		Firmicu tes	Clostrid ia						environ mental samples
Bf58	<i>Clostridium</i> sp. 25	thiosulfate- and sulfur-redu cing bacteria	591/616 (95%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>Clostridi um</i> sp. 25
Bf59	<i>Zoogloea</i> <i>ramigera</i>		514/540 (95%)		Proteob acteria	Betapro teobacte ria		Rhodoc yclales		Rhodocy claceae	<i>Zoogloea</i>	<i>Z. ramiger a</i>
Bf60	uncultured bacterium MK21	activated sludge	489/555 (88%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf61	uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone Blhii16	industrial waste gas biofilter	574/600 (95%)	Bacteroi detes/Ch lorobi group	Bacteroi detes							environ mental samples
Bf62	<i>Aeromonas</i> <i>veronii</i> clone 4		537/543 (98%)		Proteob acteria	Gamma proteob acteria		Aeromo nadales		Aeromon adaceae	<i>Aeromo nas</i>	<i>A. veronii</i>
Bf63	<i>Clostridium</i> <i>gasigenes</i>	psychrophil ic	521/526 (99%)		Firmicu tes	Clostrid ia		Clostrid iales		Clostridi aceae	<i>Clostridi um</i>	<i>C. gasigene s</i>

균주 번호	유전자가 가장 비슷한 데이터베이스상 의 클론이나 균주	특성	일치염기 수/비교 염기수 (일치도)	계통분류계급								
				Super- phylum	Phylum (문)	Class (강)	Subclass (아강)	Order (목)	Suborde r(아목)	Family (과)	Genus (속)	Species (종)
Bf64	<i>Clostridium aff. estheticum</i> A-1/C-an/C1	Antarctica mat from lake	566/592 (95%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. aff. estheticum</i>
Bf65	<i>Clostridium aff. estheticum</i> A-1/C-an/C1	Antarctica mat from lake	573/592 (96%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. aff. estheticum</i>
Bf66	<i>Clostridium</i> sp. 25	thiosulfate- and sulfur-reducing bacteria	555/574 (96%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> sp. 25
Bf67	<i>Sphaerotilus</i> sp. IF5	paper mill slime	551/563 (97%)		Proteobacteria	Betaproteobacteria		Burkholderiales		Comamonadaceae	<i>Sphaerotilus</i>	<i>Sphaerotilus</i> sp. IF5
Bf68	Metal-contaminated soil clone K20-13	metal-contaminated soil	551/583 (94%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf69	<i>Clostridium puniceum</i>	polysaccharolytic clostridia	546/568 (96%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. puniceum</i>
Bf70	uncultured bacterium clone p-478-02	pig gastrointestinal tract	198/209 (94%) 91/112 (81%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf71	<i>Thiothrix eikelboomii</i>	filamentous bacteria from bulking activated sludge	506/513 (98%)		Proteobacteria	Gamma proteobacteria		Thiotrichales		Thiotrichaceae	<i>Thiothrix</i>	<i>T. eikelboomii</i>
Bf72	<i>Clostridium favosporum</i> DSM5907		493/504 (97%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. favosporum</i>
Bf73	uncultured eubacterium clone 3	denitrifying reactor treating landfill leachate	535/567 (94%)		Proteobacteria	Betaproteobacteria						environmental samples
Bf74	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24		559/564 (99%)		Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i> sp.
Bf75	<i>Clostridium bowmanii</i> type strain DSM14206, clone 16		589/605 (97%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. bowmanii</i>
Bf76	uncultured bacterium clone PHOS-HE31	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	494/514 (96%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf77	no matches											no matches
Bf78	uncultured <i>Brevundimonas</i> sp.		63/75 (84%) 32/34 (94%)									chimera
Bf79	<i>Clostridium bowmanii</i> type strain DSM14206, clone 16		605/613 (98%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. bowmanii</i>
Bf80	uncultured bacterium clone p-478-02	pig gastrointestinal tract	577/594 (97%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf81	<i>Clostridium carboxidivorans</i>	agricultural settling lagoon	418/442 (94%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. carboxidivorans</i>

균주 번호	유전자 가장 비슷한 데이터베이스상 의 클론이나 균주	특성	일치염기 수/비교 염기수 (일치도)	계통분류계급								
				Super- phylum	Phylum (문)	Class (강)	Subclass (아강)	Order (목)	Suborder (아목)	Family (과)	Genus (속)	Species (종)
Bf82	uncultured Planctomycetales clone DSP01		338/368 (91%)		Planctomycetes	Planctomycetacia		Planctomycetales				environmental samples
Bf83	<i>Clostridium aff. estheticum</i> A-1/C-an/C1	Antarctica mat from lake	533/574 (92%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. aff. estheticum</i>
Bf84	uncultured bacterium clone p-478-02	pig gastrointestinal tract	480/498 (96%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf85	<i>Mycobacterium austroafricanum</i> isolate VM0573	PAH-degrading mycobacterium	545/551 (98%)		Actinobacteria	Actinobacteria	Actinobacteridae	Actinomycetales	Corynebacterineae	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	<i>M. austroafricanum</i>
Bf86	uncultured bacterium RSb12		347/363 (95%) 80/86 (93%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf87	uncultured alphaproteobacterium clone Sh765B-TzT-3 1	uranium mining waste piles and mill tailings	520/534 (97%)		Proteobacteria	Alphaproteobacteria						environmental samples
Bf88	uncultured bacterium PHOS-HE99	phosphorus removal ecosystem and nitrate respiration	399/456 (87%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Bacteroidetes						environmental samples
Bf89	<i>Bacillus</i> sp. strain TKSP24		558/562 (99%)		Firmicutes	Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i> sp.
Bf90	no matches											no matches
Bf91	uncultured bacterium clone p-478-02	pig gastrointestinal tract	500/520 (96%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf92	<i>Clostrium</i> sp. 25	thiosulfate- and sulfur-reducing bacteria	498/508 (98%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> sp. 25
Bf93	<i>Clostridium favosporum</i> DSM5907		329/373 (88%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. favosporum</i>
Bf94	<i>Clostridium bowmanii</i> type strain DSM14206, clone 16		578/597 (96%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. bowmanii</i>
Bf95	<i>Clostridium bifermentans</i>		291/353 (82%) 72/81 (88%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. bifermentans</i>
Bf96	<i>Clostridium lituseburense</i>		571/600 (95%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. lituseburense</i>
Bf97	uncultured eubacterium clone F13.9	wastewater treatment	543/569 (95%)		Bacteroidetes/Chlorobi group	Chlorobi						environmental samples
Bf98	<i>Clostridium frigoris</i>		548/571 (95%)		Firmicutes	Clostridia		Clostridiales		Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>C. frigoris</i>
Bf99	uncultured soil bacterium PBS-11-13	bulk soil and rice roots	411/471 (87%)		Planctomycetes	Planctomycetacia		Planctomycetales				environmental samples
Bf100	uncultured bacterium clone SHA-123	1,2-dichloropropane dechlorinated bacteria	496/515 (96%)		Firmicutes	Clostridia						environmental samples
Bf101	<i>Thermomonas fusca</i> type strain LMG21737T	denitrifying bacteria	565/603 (93%)		Proteobacteria	Gamma proteobacteria		Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	<i>Thermomonas</i>	<i>T. fusca</i>

<부록 2-8> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균의 질소와 인 제거능력(1차년도)

균주 기호	균주종명	NH <sub>3</sub> -N					PO <sub>4</sub> -P				
		농도변화(mg/ℓ)			제거효율(%)		농도변화(mg/ℓ)			제거효율(%)	
		0일	1일 후	2일 후	1일 후	2일 후	0일	1일 후	2일 후	1일 후	2일 후
대조균	접종안함	12.49	13.75	9.84	0	21	5.447	5.447	6.616	0	0
Ni9	<i>Bacillus</i> sp.	13.25	10.03	3.95	24	70	5.447	5.865	5.865	0	0
Ni52	<i>B. subtilis</i>	14.01	7.61	1.45	46	90	5.447	2.441	2.699	55	50

<부록 2-9> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균의 질소 제거능력(2차년도)

균주 기호	균주종명	NH <sub>3</sub> -N 농도(mg/ℓ)									
		1차 (2003. 3. 7)			2차 (2003. 3. 22)		3차 (2003. 4. 9)				
		0일	1일 후	2일 후	0일	2일 후	0일	1일 후	2일 후	3일 후	4일 후
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	53.7	47.6	39.7	95.0	18.0	135.3	120.1	120.6	108.8	154.8
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	53.7	43.2	36.4	95.0	11.5	135.3	119.9	143.7	69.5	112.1
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	53.7	3.7	7.3	95.0	11.8	135.3	119.1	118.4	76.6	97.2
Ni12	<i>B. megaterium</i>	53.7	5.3	5.8	95.0	9.2	135.3	98.1	117.2	83.0	85.4
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	53.7	15.6	13.0	95.0	10.4	135.3	109.8	118.3	76.7	78.3
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	53.7	5.3	4.6	95.0	9.6	135.3	119.8	107.5	59.7	70.4
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	53.7	51.2	42.1	95.0	11.4	135.3	111.4	118.5	82.7	117.9
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	53.7	7.6	10.3	95.0	10.2	135.3	119.2	123.4	75.9	81.0
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	53.7	5.1	8.3	95.0	15.3	135.3	109.0	110.7	86.3	101.9
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	53.7	4.8	9.6	95.0	11.5	135.3	125.6	104.4	88.8	87.5
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	53.7	4.5	9.2	95.0	11.5	135.3	115.2	121.4	106.4	124.3
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	53.7	12.3	9.5	95.0	12.9	135.3	121.0	112.8	98.8	121.7
대조균	균 접종하지 않음	53.7	47.3	44.5	95.0	95.0	135.3	135.3	135.3	135.3	135.3



<부록 2-10> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균의 인 제거능력(2차년도)

균주 기호	균주종명	PO <sub>4</sub> -P 농도(mg/ℓ)									
		1차 (2003. 3. 7)			2차 (2003. 3. 22)		3차 (2003. 4. 9)				
		0일	1일 후	2일 후	0일	2일 후	0일	1일 후	2일 후	3일 후	4일 후
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	14.2	3.9	1.7	11.8	0.4	12.1	5.7	3.4	4.1	0.9
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	14.2	2.4	2.6	11.8	0.2	12.1	6.1	6.1	3.2	2.9
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	14.2	1.9	4.1	11.8	3.0	12.1	9.4	3.6	2.2	3.1
Ni12	<i>B. megaterium</i>	14.2	4.2	5.9	11.8	7.0	12.1	8.9	7.7	7.2	5.6
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	14.2	2.7	3.3	11.8	2.1	12.1	8.4	3.6	6.2	9.7
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	14.2	0.2	1.7	11.8	0.5	12.1	4.9	2.1	2.8	2.3
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	14.2	3.3	1.6	11.8	0.4	12.1	8.2	2.3	3.0	2.5
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	14.2	3.9	8.3	11.8	0.5	12.1	7.2	5.8	3.9	0.0
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	14.2	0.3	1.1	11.8	1.0	12.1	3.5	0.2	0.1	0.0
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	14.2	5.2	7.9	11.8	1.3	12.1	6.4	9.2	0.0	4.5
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	14.2	0.9	3.9	11.8	0.7	12.1	4.5	1.8	6.4	10.5
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	14.2	1.9	3.9	11.8	9.8	12.1	11.1	10.4	3.0	1.6
대조군	접종하지 않음	14.2	12.0	12.3	11.8	11.8	12.1	12.1	12.1	12.1	12.1

<부록 2-11> RABC 생물막에서 분리한 바실러스균을 다양한 환경조건에서 7일 동안 계속 배양했을 때의 성장 변화 양상

A: pH 4.5

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	-	△-	△-	△-	△-	△-
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-

-, 성장 불가; △, 성장 미미; +, 성장 좋음; ++, 성장 아주 좋음

B: pH 5

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	△	△	△	△	△	△
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	△	△	△	△	△	△
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-

-, 성장 불가; △, 성장 미미; +, 성장 좋음; ++, 성장 아주 좋음

C: pH 5.5

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	△
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	△	△	△	△	△	△
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	△-
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	-	△	△	△	△	△	△
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	△	△	△	△	△	△
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-

-, 성장 불가; △, 성장 미미; +, 성장 좋음; ++, 성장 아주 좋음

D: pH 8.5

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	△	△	△	△	△
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	△-	△	△	△
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	△	△	△	△	△	△	△
Ni12	<i>B. megaterium</i>	△	△	△	△	△	△	△
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	△	△	△	△	△	△	△
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	△	△	△	△	△
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	△-	△	△
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	△	△	△	△	△	△	+
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	△	△	△	△
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	△	△	△	△	△	+	+
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	△	△	△	△	△	△	△
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	△	△	△

-, 생장 불가; △, 생장 미미; + 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

E: pH 9

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	△	△
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	△	△
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	△	△	△	△	△	△	△
Ni12	<i>B. megaterium</i>	△	△	△	△	△	△	△+
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	△	△	△	△	△	△	△
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	△	△	△	△	△
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	△-	△	△
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	△	△	△	△	△	△	△
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	△	△	△
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	△	△	△	△	△	+	+
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	△	△	△	△	△	△	△
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	△	△	△

-, 생장 불가; △, 생장 미미; +, 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

F: pH 9.5

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	△	△
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	△	△
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	△-	△	△	△	△	△	△
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	-	-	-	-	△	△+
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	△-	△
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	△-	△-	△-	△
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	△-	△	△+
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	△-	△-	△-	△-	△-	△-	△
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	△
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	△-	△	△	△	△	+	+
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	△-	△	△	△	△	△
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	△	△

-, 생장 불가; △, 생장 미미; +, 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

G: 10℃

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	-	-	△-	△	△	+	+
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	△	△	△+	+	+	+

-, 생장 불가; △, 생장 미미; + 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

H: 15℃

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	△	△	+	+	+
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	△-	△	△+	+	+
Ni12	<i>B. megaterium</i>	△	△	+	+	++	++	++
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	△	△	+	+	+
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	△-	△	△	△	+	+
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	△-	△-	△	+	+
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	△	△	+	+	++	++	++
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	△	△	△	△	+	+
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	△	△	△	+	+	+
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	△	△	△	+	+
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	△	+	+	+	++	++	++

-, 생장 불가; △, 생장 미미; +, 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

I: 20℃

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	△-	△	△	△	+	+	+
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	△+	+	+	+	+	++	++
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	△+	+	+	+	+	+	++
Ni12	<i>B. megaterium</i>	+	+	+	+	++	++	++
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	△	+	+	+	+	++	++
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	△	+	+	+	++	++	++
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	△+	+	+	+	+	+	++
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	+	+	+	+	++	++	++
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	△+	+	+	+	++	++	++
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	△+	+	+	+	++	++	++
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	△	+	+	+	+	+	++
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	+	++	++	++

-, 생장 불가; △, 생장 미미; +, 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음

J: 혐기 조건

균주기호	균주종명	배양기간						
		1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
Ni2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni7	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni8	<i>B. amyloliquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni12	<i>B. megaterium</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni16	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni21	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni23	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni26	<i>B. vallismortis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni29	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni30	<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ni32	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
Ni24	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	△	△	△	△	△

-, 생장 불가; △, 생장 미미; + 생장 좋음; ++, 생장 아주 좋음