

전분폐수의 생물학적 처리에 관한 연구

1. 소맥 전분폐수 처리균의 분리와 처리효과

기 우 경
경상대학 식품가공학과
1975年 10月 5日

Biological Treatment of Starch Waste

Part 1. Isolation of Wheat Starch Waste Decomposing Organisms and Their Efficiency on Waste Treatment

Woo Kyung Ki

Department of Food Processing
Gyeongsang university
(Received 1975)

Abstract

In order to develop an activated sludge which can be used for both waste treatment and protein source of animal feed, microorganisms were isolated from sewages of various wheat or sweet potato starch processing plants and their activities were tested. Out of 32 isolates which composed of two protozoan genera and 13 bacterial strains, were screened and three bacterial strains were found to be most effective in both floc-formation and wheat starch waste liquid stabilization.

1. 서 론

최근 각종폐수⁽¹⁾가 생물학적 처리법⁽²⁾⁽³⁾의 일종인 Activted sludge에 의해 처리되므로 관여 미생물이나 처리법에 대해서는 물론 sludge 자체의 물리 화학적 성질⁽⁴⁾⁽⁵⁾에 대해서도 많은 연구가 되고 있다. 특히 최근 사료난이 심각해지므로 처리 후의 잉여 sludge를 사료화하려는 연구가 되어 왔다. 우리나라의 경우 대부분의 산업폐수가 그대로 방류되고 있으며 소맥전분만 하더라도 74년 10000 M/T⁽⁶⁾ 이상 생산되었으나 폐수처리 시설을 한곳은 없는 실정이다.

본 연구는 Hurwitz⁽⁷⁾ Naoji Hochino⁽⁸⁾ 등에 의해 여러 폐수 sludge 단백질이 양질의 것이라는 분석 결과와 Ichiro Goto⁽⁹⁾에 의한 사료에 첨가 사육결과등을 종합하여 우리나라에서도 막대한 량의 사료 생산이 가능하리라 믿고 이에 따른 기본적인 몇가지 검토를 하였다. 첫째 sludge 형성세균의 분리에 대해서는 Bulterfield⁽¹⁰⁾의 Zoogloea 속의 분리이후 이속에 대한 많은 연구가 되었으며 Ross E. Mck inney⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ 이후 Zoogloea속의 floe 형성 세균에 대해서도 최근까지 검토되었다. 특히 Kan Kiuchi⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ 등에 의하면 몇종의 세균의 혼합배양은 floe 형성이 촉진되는 결과를 가져온다 하였다. 그리고 세균 이외의 floe 형성이 관여하는 원생동물에 관한

연구도 Isamu Horasawa⁽¹⁵⁾ 盛下勇⁽¹⁶⁾ 등에 의하면 깊은 관계가 있다한다. 본 연구에 있어 flocc 형성 관여균의 분리는 인공 소맥전분 폐수에 전분 공장 에서 분리한 균원을 접종하여 flocc 형성 상태를 검토하고 우수 flocc 형성 시료에서 분리한 세균 몇종의 특성을 검토하고 이러한 세균을 단일 처리 했을 때와 상기 혼합균에 의한 처리시 처리 효과와 sludge 단백질생산 등을 비교 검토하였다.

실험 방법

1) 우수균원의 선별

밀가루(2 등품)을 1 : 30(W/V) 비율로 수도물에 현탁하고 24시간 정지한 후 상등액을 인공 소맥 폐수로 하여 500ml round flask 에 100ml씩 넣고 진탕 배양하여 flocc를 형성시켰다. 균원은 소맥전분 공장폐수 부근에서 12곳, 고무다 전분폐수 공장에서 20개의 sample을 채취하여 상기 배양액에 접종하여 24—48시간 진탕 배양한 결과 flocc형성과 투명도가 우수한 균원 N-9와 J-3을 선별하였으며 이를 세균 분리용 시료로 하였으며 특히 N-9는 flocc 형성능이 우수 하였으므로 N-9와 J-3에서 분리한 우수한 flocc 형성 세균과 폐수처리 효과를 비교하였다. 균의 선별이나 폐수처리 때의 진탕배양은 20°C의 온도에서 진폭 4m 1분간에 진탕회수 120회로 하였다.

2) flocc 형성 세균의 분리와 선별

flocc 내 오염된 균의 순수분리를 위하여 상기 1)의 N-9와 J-3의 배양액 소량을 0.85% 식염수에 적당히 희석하여 10분간 3000 rpm에서 Homogenize⁽¹⁴⁾ 하고 이를 surface plate method 에 의해 20°C에서 배양한 후 분리하였다. 분리용 배지는 0.5% beef extract 에 0.1% yeast extract를 첨가하여 사용하였으며 각분리된 균은 다시 상기 소맥전분 폐수에 접종하여 투명도와 flocc 형성능이 우수한 세균을 최종 선별 하였다.

3) 분리 균의 검사

① 원생 동물

盛下勇⁽¹⁷⁾ 등에 의한 검사에서와 같은 방법으로 하였으며 특수기관의 염색은 phenol 포화액 80cc, formalin 20cc, Glycerin 4cc, crystal violet 20mg의 혼합액으로 염색하여 관찰하였다.

② 선별 세균의 형태학적 검사⁽¹⁸⁾

일반적인 방법에 준하였다. 다만 Gram 염색은 Hucker's의 변법에 의하였고 Flagella 염색은 劉의 법에 의하였다.

③ 선별세균의 생리학적 검사⁽¹⁹⁾

일반적인 방법에 준하였다.

4) 폐수처리 효과 및 Activated sludge 생산

① 폐수처리

실제 소맥전분 제조시⁽²⁰⁾에는 소맥의 5—8 개의 물을 가하여 처리 하나 본실험에서는 물과 소맥을 10 : 1로 혼합하여 24시간 정지한 후 이 폐수를 사용하였는데 이 소맥 폐수의 조성과 성질은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of wheat-starch waste.

Composition	Analytical Value
C. O. D. (ppm)	3,700
B. O. D. (ppm)	7,800
Total sugar (ppm)	1,530
Reducing sugar (ppm)	398
Total nitrogen (ppm)	272
Total phosphorus (ppm)	20
Transparence	Turbid
pH	5.2

폐수처리는 각 최종 선별한 세균 단일 처리나 원생동물과 혼합균인 N—9 처리에 있어 균의 접종은 상기 폐수에서 2일 배양한 균배양액 1ml를 접종하여 균선별시와 같이 처리하고 5일후 처리액을 4000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액의 일부로서 폐수처리 효과를 검토하였고 원심분리한 잔사는 Toyo 5—B 여지로 여과하여 모우고 더운물로 2—3회 세척하고 이를 sludge 단백질 정량용 시료로 하였다.

② B. O. D. ⁽²¹⁾

J. I. S Kloulz에 의한 법으로 5일간의 산소 요구도를 ppm로 표시하였다.

③ C. O. D. ⁽²²⁾

J. I. S Kloulz에 의한 법으로 100°C에 있어서 KMnO₄에 의한 산소 소비량은 ppm으로 나타냄.

④ 총질소와 조단백⁽²³⁾

micro-kjeldahl法에 의하여 정량

⑤ Total phosphorus⁽²⁴⁾

HNO₃와 HCl로 분해시킨후 Molybdovanadate 시약으로 발색시켜 400nm에서 측정정량

⑥ 전당과 환원당

Somogyi 변법으로 정량하였다.

2. 결과 및 고찰

1) 폐수처리 균의 분리

소맥과 고구마 전분폐수 공장의 부근에서 채취한 32개의 균원에 대한 소맥전분 폐수 정화시험 결과 24시간내에 floc 형성과 투명도가 우수한 N-9와 40시간 내에 floc 형성이 가능한 균원 J-3를 선별하였는데 두 sample에서 각각 원생동물이 한종씩⁽¹⁶⁾ 확인되었다. fig. 1은 N-9 균원의 소맥전분 폐수처리시의 floc와 원생동물을 나타내고 fig. 2는 J-3 균원에서 확인된 원생동물을 나타낸다.

fig. 1의 원생동물은 한개의 편모를 가지며 $60 \times 20 \mu$ 의 크기의 *Eugelena* 속에 속하여 fig. 2의 원

생동물은 두개의 편모를 가지며 $12.4 \times 8 \mu$ 의 크기로서 핵은 균체 후부에 존재하는 *Bodo* 속의 원생동물이었다.

2) 세균의 분리와 선별

우수 폐수처리 균원 N-9에서 7종의 세균 J-3에서 6종의 형태학적으로 차이가 있는 균을 순수분리하여 floc 형성 시험을 한 결과 4일 이전에 floc를 형성하는 세균은 J-3 균원에서 분리된 strain No. J-3-2와 J-3-1이 있으며 N-9 균원에서는 N-9-2 1종이 최종 선별되었다. Kan kiuchi⁽¹⁴⁾ 등은 몇종의 세균을 혼합배양 함에 따라 floc 형성이 측

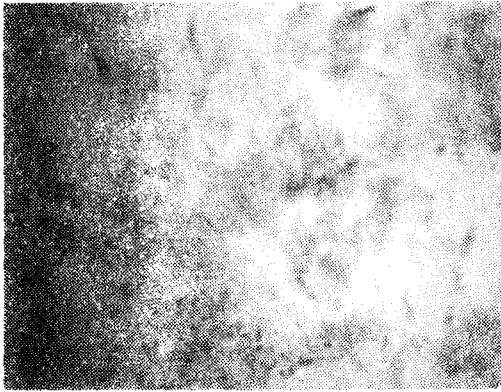


Fig. 1 Floc formation by mixed culture of *Eugelena* sp. and bacterial strains from sample N-9 (7X)

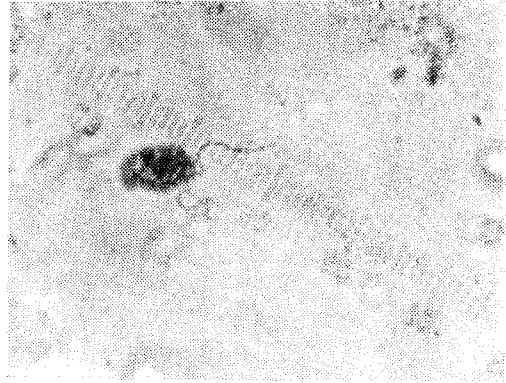
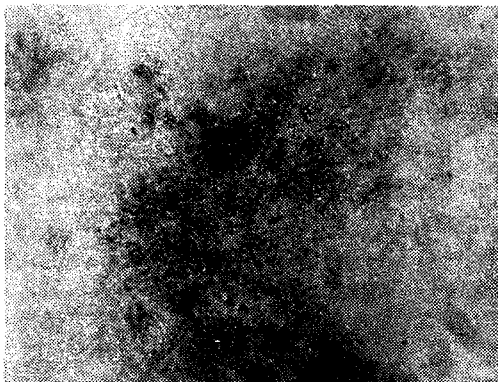
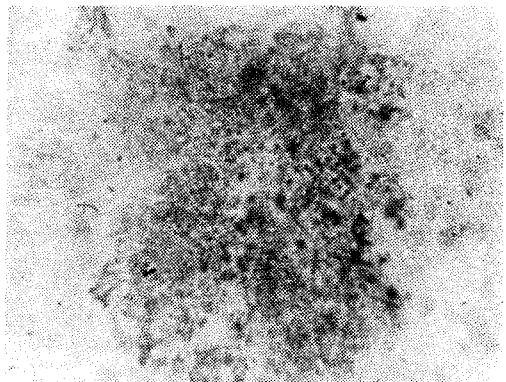


Fig. 2 *Bodo* sp. from sample J-3 (1500X)



Strain No. J-9-2



Strain No. J-3-1

Fig. 3. Microphotographs of flocs formed in single culture (700X)

진되는 경우도 있다고 하였으나 본 실험에서 검토 해본 결과는 혼합 배양에 따른 촉진 효과는 없었다.

3) floc 형성 우수세균의 특성

선별된 floc 형성우수 세균의 형태학적 특성은 Table 2와 같다.

Table 2. Morphological characteristics of selected Bacteria.

	N-9-2	J-3-1	J-3-2
Form	Rod	Fod	Rod
Size (μ)	2.5×1.8	3×1.5	2.3×1.8
Flagella	Polar	Polar	Polar
Gram staining	-	+	-
Flocculant growth	+	+	+
Agar slant	Ivory	Transparent	Slime

Table 3. Physiological Characteristics of Selected Bacteria.

	N-9-2	J-3-1	J-3-2
NH ₃	-	-	+
Catalase	+	+	+
M. R. test	-	+	-
V. P. test	-	-	±
KNO ₃ reduction	-	-	+
H ₂ S	-	-	+
Indol	-	-	+
Gelatin liquen.	-	-	-
Acid pro- duction	Glucose sol. starch	- -	+
Gas pro- duction	Glucose Sol. Starch	- -	-

위의 Table 2의 형태학적 특성과 Table 3의 생리학적 성질을 검토⁽²⁵⁾할때 *pseudo monas*, *Zoogloea*⁽²⁶⁾ *Comamonas*⁽²⁷⁾속과 유사한 점이 많았으나 균의 확실한 동정은 다음에 발표코자 한다.

4) 폐수처리 효과 및 sludge 단백질 생산

Table 1에서 보면 희석않은 소맥폐수일 경우 B. O. D : Nitrogen 은 약 28 : 1로 세균의 sludge 형성에 필요한 최소 요구량⁽²⁸⁾ 이상의 질소는 함유되었다고 볼수 있으나 대부분이 유기 질소이므로 얼마만큼이 균의 대사에 이용되는 지는 알수 없다 phosphorus 의 량은 20 ppm 으로 최소 요구량에 2 배 이상 부족된다. 그리고 B. O. D : C. O. D. 의 비율도 고구마⁽²⁹⁾의 경우와는 약간의 차이가 있다.

Table 4. Effect of various Activated Sludge treatment on wheat starch waste. (B. O. D. of waste: 7,800 ppm)

	N-9	J-3-2	J-3-2	N-9-2
B. O. D. of treated Waste (ppm)	300	997	897	1,000
C. O. D. of treated Waste (ppm)	333	894	1,019	884
Sludge protein (mg)	11.4	22.0	16.6	6.6
Reducing sugar (ppm)	17.6	21	19	22
pH of treated waste		8.4		
Floc. size	large	large	small	middle
Turbidity*	+++	++	+	+

+++ means good transparence

Table 5. Purification efficiencies of various microflora on the diluted waste. (B. O. D. of wheat-starch waste; 2600 ppm)

	B. O. D. of treated Waste (ppm)	Removing efficiency 5 (%)
N-9	76.3	99
J-3-1	263	92
N-9-2	114	96

Table 4는 소맥 인공폐수 원액의 미생물 처리결과를 나타낸다.

Table 4에서 보면 N-9균의 혼합 배양의 경우 원료 폐수의 B. O. D가 7,800 ppm에서 96%를 제거하였고 단일세균 처리의 경우 87~89%를 제거하였다. 그리고 이때 생성되는 sludge의 단백질량은 균에 따라 상당한 차이가 있었다.

이는 H. Heukelekian⁽³⁰⁾등이 말한 B. O. D 농도와 부유 고형물이 sludge 생성량에 영향을 미치는 인자란 것과는 차이가 있었으며 Lumb가 주장한 Activated sludge 고형물의 산화는 무시될 수 있다는 이론과도 차이가 있다. 다음 Table 5는 위의 폐수를 3배 희석하여 B. O. D. 2,600 ppm 정도의 폐수에 처리한 경우이다.

이 경우 B. O. D. 제거율은 N-9의 혼합 배양일 경우 99% 그리고 J-3-2와 J-9-2의 경우 각각 92%와 96%로 대부분의 유기물이 제거된다고 할수 있다. 이 경우 처리 효과가 좋아진 것은 N-와 P 등 영양소의 원료폐수 B. O. D.에 대한 비가 높아진 것에 기인 하는것 같다. Michio Dazai⁽³¹⁾는 고구마

와 감자 전분페수의 B. O. D. 7,000 ppm 이하에서는 생화 효율에서는 차이가 없다 하였으나 Table 4 와 Table 5 를 비교하면 상당한 차이가 균에 따라 있음을 알 수있다. 그리고 단종의 세균에 의한 처리보다 원생물과 각종 세균의 혼합배양인 N-9 의 경우가 처리효과가 좋은것은 원생동물, Horasawa⁽³²⁾ 등이 주장하는 세균의 표식이나 F. F. Dias⁽²⁷⁾ 등이 발표한 입자나 세균, 유기물을 제거하여 안정화한다는 원생동물의 존재에 기인한 것 같다.

Fig. 3 과 Fig. 4 는 수막페수처리시 형성된 floc 를 나타내는 것으로 J-3-2는 Indol와 H₂S등을 형성하므로 문제시 된다.

4. 요 약

Activated sludge 를 페수처리와 사료로 이용하기 위하여 고구마와 소맥 전분페수에서 채집한 32종의 균원을 선별한 결과 2종의 우수한 균원을 확인하고 N-9균원으로 부터 7종의 세균 J-3 으로부터 6종의 세균을 분리하여 최종 선별 결과 3종의 세균 J-3-1, J-3-2, J-9-2를 선별하였다.

1. N-9의 혼합 배양의 경우 J-3보다는 floc형성능이 좋았으며 N-9로 부터 *Eugelena*속의 원생동물 1종이 J-3에서는 *Bodo* 속의 원생동물 1종이 동정되었다.
2. 3종의 선별된 균에대한 형태학적 생리학적 특성을 검사했다.
3. Sample N-9의 혼합균 배양에 의해 99%의 페수의 B. O. D. 가 제거 되었으며 세균 단독 배양일 경우 92% 이상의 B. O. D. 가 제거되었다.
4. 원료소맥 전분페수의 B. O. D. 가 8,000 ppm 이하에서도 B. O. D. 제거율과 sludge에서 생산된 protein 량은 페수의 B. O. D. 와 처리하는 균에 따라 상이하였다.

참 고 문 헌

- 1) R. D Ross; Industrial waste Disposal: VAN NOST RAND REN Hold press, New York, 99—189 (1968)
- 2) 植村定治郎; 發酵と微生物Ⅲ(朝倉書店) 135—195 (1970)
- 3) Michio Dazai, Makoto ogawa and Hideo ono; J. Ferment, Technol(Japan) 43. 9, 409—415 (1965)
- 4) Yoo Takiguchi; J. Ferment Technol (Japan)

- 50 (5) 331—342 (1972)
- 5) Shozo Nischikawa and Mitsuo Kyriyama; J. Ferment Technol, 46 (5) 381—386 (1968)
- 6) 농업협동조합중앙회 : 농협연감 68 (1974)
- 7) Huwitz, E. ; Waste Engineering (Augst) 388 (1957)
- 8) 星野直司, 松尾假樹, 小野英男; 日本食品工業學會誌 16, (2) 87—93 (1960)
- 9) Ichiro Goto, Yasuhisa Musuda and Mituo Sen-uki; Sci, Bull, Fac, Agr., (Kyu Shu Univ) 28, 115—118 (1974)
- 10) Butter field, C. T. :U. S. pub, Heath Repts. 50, 671—684 (1935)
- 11) Mickinney, R. E. and Horwood, M. P. ; Sewage and Ind. wastes 24, 117~123 (1952)
- 12) Ross E. Mckinney and Russell G. Weichlein; Appl. Microbiol., 1, 259 (1953)
- 13) Kan Kiuchi, Hiroshi Kuraishi, Haryoshi Murooks Koaida and Teijiro Uemura; J. Gen. Appl Microbiol, 14, 387—397 (1968)
- 14) Kan Kiuchi. Hiroshi Kuraishi, Haruyohi Murooks Koaidaand Teijiro Uemura J. Gen. Appl Microbiol, 14, 399—409 (1968)
- 15) R. Isamu Hora Sawa; Tour, water works and sewage (Jadan) 189, 55 (1950)
- 16) 盛下勇; 用水と廢水; 5 (4) 63—78 (1963)
- 17) 盛下勇; 用水と廢水; 5 (3) 59—66 (1963)
- 18) 盛下勇; 用水と廢水; 5 (7) 71~80 (1963)
- 19) 安齊博; 小松信彦編; 微生物學實習指(針廣川書店, 日本) (1969)
- 20) 桜井彦人, 齊藤道雄, 東秀雄編; 食料工業(厚生閣日本) 110 (1665)
- 21) JIS KO 120 33—36 (1974)
- 22) JIS KO 102 26—28 (1971)
- 23) William Horwitz. ; Methods of Alnaysis Ao-Ac 858 (1970)
- 24) Willi2m Horwitz. ; Methods of Analysis AoAc 11 (1970)
- 25) Williams and Wilkins; Bergey's Manual of determinatia Baetevlog, (1957)
- 26) P. R Dugao and D. G Lundgren; Appl, Microbiol., 8, 357—361 (1960)
- 27) F. F. Dias and J. V. Bhat. ; Applied Microbiology 12 (5) 412—417 (1964)
- 28) E. N. Helmers, J. D. Frame, A. E. Greenferg, and C. N Sawyer; Sewage and industrial waste

- 23, (7) 884—898 (1951)
- 29) 神山桂一, 井上一郎, 高安三沈; 用水と廢水 **3**
12, 963—976 (1963)
- 30) H. Heuketekian, H. E. orford and R. Man-
ganelli; Sewage and industrial wastes **23** (8)
934—958 (1951)
- 31) Michio Dazai Makoto Ogawa and Hideo ono;
J. Ferment. Technol(Japan) **43**, 6, 409—415
(1965)
- 32) Isamu Horawa; Jour water works and
Sewage (Jadan) 189, 55(1950)